



**Naturalis**

Repositorio Institucional

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Naturales y Museo



# **Caracterización de *Phytophthora capsici* como patógeno de especies hortícolas presentes en la zona noreste de la provincia de Buenos Aires**

**Iribarren, María Josefina**

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Steciow, Mónica M.

Co-dirección: González, Beatriz A.

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

2015

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20160225001431>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



**Naturalis**

Repositorio Institucional  
FCNyM - UNLP



**CARACTERIZACIÓN DE *PHYTOPHTHORA CAPSICI* COMO  
PATÓGENO DE ESPECIES HORTÍCOLAS PRESENTES EN  
LA ZONA NORESTE  
DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
NATURALES  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

MARÍA JOSEFINA IRIBARREN

DIRECTORA: MÓNICA M. STECIOW  
CODIRECTORA: BEATRIZ A. GONZÁLEZ

**Año 2015**

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM) por brindarme la posibilidad de enmarcar este estudio de investigación, al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) por otorgarme la beca de investigación que permitió financiarlo y a la Universidad Nacional de Luján (UNLu), por brindarme el ámbito de trabajo.

A la Dra. Mónica Steciow y a la Dra. Beatriz González por sus sugerencias y comentarios en la ejecución y escritura de esta tesis.

A la Dra Alina Greslebin, la Dra. Ma. Laura Vélez (Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico; CIEFAP), la Dra. Andrea Ferri, el Lic. Eduardo Guillín (Instituto de Tecnología Agropecuario; INTA) Castelar y a la Lic. Cecilia Borassi (UNLu), por su invaluable y generosa colaboración para la identificación molecular de los aislamientos.

A la Dra. González por aportar su valiosa experiencia en las tareas de identificación y por darme el espacio para que pudiera llevar adelante la investigación.

A la Dra. Steciow por guiarme en la investigación y por brindarme su apoyo para concretar este proyecto.

Al Ing. Agr. M. Sc. Ceferino Flores (INTA Yuto), al Dr. Ricardo Moscchini (INTA Castelar) y a la Lic. Susana Filippini por el aporte de conocimientos que fueron integrados en la presente investigación.

A la Sra. Claudia Ojeda del Laboratorio Central de la Universidad Nacional de Luján, por su enorme colaboración, en el mantenimiento de la colección y de las tareas de laboratorio en general.

A los productores que facilitaron mi ingreso a sus establecimientos y aportaron información de gran valor, especialmente para Javier Achura y Samuel Villafuerte del partido de Exaltación de la Cruz.

Muy especialmente, a mi esposo y mis dos hermosos hijos que me acompañaron en estos años con su amor y paciencia, y a todos quienes me alentaron a transitar este camino.

## INDICE

INDICE DE FIGURAS.....	8
RESUMEN .....	12
ABSTRACT.....	15
I. INTRODUCCIÓN .....	19
I.1. Importancia del género <i>Phytophthora</i> y de <i>P. capsici</i> a nivel mundial.....	19
I.2. Importancia del género <i>Phytophthora</i> y de <i>P. capsici</i> en Argentina .....	21
I.3. Taxonomía y clasificación del género <i>Phytophthora</i> y de <i>P. capsici</i> .....	23
I.4. Caracterización morfológica de <i>Phytophthora</i> spp. y de <i>P. capsici</i> .....	29
I.5. Caracterización fisiológica de <i>Phytophthora</i> spp. y de <i>P. capsici</i> .....	33
I.6. Caracterización molecular de <i>Phytophthora</i> spp. y de <i>P. capsici</i> .....	34
I.7. Análisis poblacional de <i>P. capsici</i> .....	36
I.8. El patógeno.....	38
I.8.1. Aspectos biológicos de <i>P. capsici</i> .....	38
I.8.2. Aspectos epidemiológicos de <i>P. capsici</i> .....	40
I.9. Los hospedantes .....	43
I.9.1. Las regiones de producción hortícola y los hospedantes .....	43
I.9.2. La expresión de los síntomas de las enfermedades causadas por <i>P. capsici</i> .....	47
I.10. El ambiente.....	49
I.10.1. Factores ambientales predisponentes para el desarrollo de la enfermedad.....	50
I.11. Avances sobre las tecnologías en uso para el control de la enfermedad .....	52
I. HIPÓTESIS .....	55
II. OBJETIVOS .....	55
II.1. Objetivo general.....	55
II.2. Objetivos específicos .....	55
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	57
III.1. Identificación de las unidades productivas con presencia de especies del género <i>Phytophthora</i> .....	57
III.2. Descripción de la zona de muestreo .....	58



III.3.	Muestreo de especies de <i>Phytophthora</i> en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas.....	59
III.4.	Determinación de la prevalencia del tizón causado por <i>Phytophthora</i> spp., en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas (2010 – 2011). ....	60
III.5.	Identificación de los aislamientos de <i>Phytophthora</i> .....	60
III.5.1.	Obtención de aislamientos a partir del material vegetal .....	60
III.5.2.	Comparación de los medios de cultivo utilizados para los aislamientos de <i>Phytophthora</i> .....	61
III.5.3.	Identificación morfológica de los aislamientos.....	63
III.5.4.	Conservación de los aislamientos .....	64
III.5.5.	Determinación de la compatibilidad sexual de los aislamientos.....	65
III.5.6.	Identificación molecular mediante secuenciación de la región ITS 1, 5.8S e ITS 2 del ADNr. ....	66
III.5.6.1.	Extracción del ADN, amplificación del ADNr y edición de secuencias. ....	66
III.5.6.2.	Análisis filogenético.....	67
III.5.6.2.1.	Construcción de árboles filogenéticos .....	67
III.5.6.2.2.	Construcción de redes filogenéticas .....	68
III.5.6.2.3.	Análisis preliminar de la variabilidad y la estructura genética de <i>P. capsici</i> .....	68
III.6.	Análisis de la sensibilidad al metalaxil .....	69
III.7.	Patogenicidad y virulencia de los aislamientos de <i>P. capsici</i> .....	69
III.7.1.	Evaluación preliminar de patogenicidad con tres aislamientos de <i>P. capsici</i> inoculados en plantines de berenjena, zapallito, tomate y pimiento, mediante dos métodos alternativos.....	70
III.7.2.	Evaluación de la patogenicidad y la virulencia en frutos de pimiento, zapallito, tomate y berenjena .....	71
III.8.	Determinación de la presencia de oosporas de <i>Phytophthora</i> spp. a partir de residuos de tejidos vegetales.....	71
III.9.	Detección de otros microorganismos asociados a las partes aéreas en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas .....	72
IV.	RESULTADOS.....	75
IV.1.	Identificación de las unidades productivas con presencia de especies de <i>Phytophthora</i> spp. ....	75
IV.2.	Descripción de la zona de muestreo .....	78

IV.3.	Muestreo de <i>Phytophthora</i> spp. en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas	83
IV.3.1.	Descripción de las variables encontradas en el muestreo .....	85
IV.3.2.	Síntomas asociados con <i>Phytophthora</i> spp.....	90
IV.4.	Determinación de la prevalencia del tizón causado por <i>Phytophthora</i> spp., en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas. Año 2010 y 2011.....	107
IV.5.	Identificación de los aislamientos de especies de <i>Phytophthora</i> .....	109
IV.5.1.	Obtención de los aislamientos a partir del material vegetal .....	109
IV.5.2.	Comparación de los medios de cultivo.....	111
IV.5.3.	Identificación <i>P. capsici</i> y de otras especies de <i>Phytophthora</i> encontradas	114
IV.5.3.1.	Diagnóstico .....	114
IV.5.3.2.	Caracterización morfológica .....	115
IV.5.3.3.	Clasificación de las especies identificadas según el origen .....	126
IV.5.4.	Conservación de los aislamientos .....	128
IV.5.5.	Determinación de los grupos de compatibilidad sexual.....	128
IV.5.6.	Identificación molecular mediante secuenciación de la región ITS 1, 5.8S e ITS 2 del ADNr. ....	133
IV.5.6.1.	Amplificación y análisis de las secuencias .....	133
IV.5.6.2.	Análisis filogenético .....	134
IV.5.6.2.1.	Construcción de árboles filogenéticos .....	134
IV.5.6.2.2.	Construcción de redes filogenéticas de <i>P. capsici</i> . ....	134
IV.5.6.2.3.	Análisis preliminar de la variabilidad y la estructura genética de <i>P. capsici</i>	140
IV.6.	Análisis de la sensibilidad al metalaxil .....	142
IV.7.	Patogenicidad y la virulencia de aislamientos de <i>P. capsici</i> .....	142
IV.7.1.	Evaluación preliminar de patogenicidad con tres aislamientos de <i>P. capsici</i> inoculados en plantines de berenjena, zapallito, tomate y pimiento, mediante dos métodos alternativos.....	142
IV.7.2.	Evaluación de la patogenicidad y virulencia en frutos de pimiento, zapallito, tomate y berenjena. ....	145
IV.8.	Determinación de la presencia de oosporas de <i>Phytophthora capsici</i> a partir de residuos de tejidos vegetales .....	151

IV.9.	Detección de otras patologías asociadas a las partes aéreas, en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas.....	151
IV.9.1.	Descripción de los síntomas asociados a otras patologías.....	152
IV.10.	Diferencias entre los síntomas producidos por <i>Phytophthora</i> spp. y por otros patógenos, en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas.....	167
V.	DISCUSIÓN .....	171
V.1.	Distribución del género <i>Phytophthora</i> y en particular de <i>P. capsici</i> .....	171
V.2.	Descripción de la zona de muestreo .....	173
V.3.	Muestreo.....	177
V.4.	Identificación de las especies de <i>Phytophthora</i> .....	179
V.5.	Sensibilidad al Metalaxil:.....	181
V.6.	Patogenicidad y virulencia de los aislamientos de <i>P. capsici</i> .....	182
V.7.	Análisis preliminar de la variabilidad genética .....	184
V.8.	Detección de otras patologías de las partes aéreas de cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas.....	186
VI.	CONCLUSIONES .....	189
VII.	BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	192
VIII.	ANEXOS .....	213

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Presencia / Ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. por hospedante en los lotes muestreados	76
<b>Tabla 2.</b> Muestras obtenidas de cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas (2010 – 2011)	84
<b>Tabla 3.</b> Prevalencia por hospedante para los dos años de muestreo (2010 - 2011)	108
<b>Tabla 4.</b> Lista de aislamientos obtenidos	109
<b>Tabla 5.</b> Comparaciones múltiples	111
<b>Tabla 6.</b> Pruebas de los efectos inter-sujetos	112
<b>Tabla 7.</b> Comparaciones múltiples	113
<b>Tabla 8.</b> Características morfométricas de los zoosporangios de <i>P. capsici</i> agrupados por hospedante	122
<b>Tabla 9.</b> Características morfométricas de los zoosporangios de <i>P. nicotianae</i> agrupados por hospedante	124
<b>Tabla 10.</b> Características morfométricas de los zoosporangios de <i>P. drechsleri</i> agrupados por hospedante	125
<b>Tabla 11.</b> Lista de aislamientos identificados con su compatibilidad sexual	129
<b>Tabla 12.</b> Distribución de haplotipos por localidad de muestreo y por hospedante	135
<b>Tabla 13.</b> Estimadores promedio de diversidad para el locus ITS de <i>P. capsici</i> con aislamientos agrupados por categorías de hospedantes predefinidas	140
<b>Tabla 14a.</b> Estimadores de diferenciación genética promedio ( $F_{ST}$ ) del locus ITS para <i>P. capsici</i> con aislamientos agrupados en categorías predefinidas por localidad	141
<b>Tabla 14b.</b> Estimadores de diferenciación genética promedio ( $F_{ST}$ ) del locus ITS para <i>P. capsici</i> con aislamientos agrupados en categorías predefinidas por hospedante	141
<b>Tabla 15.</b> Resultados de la prueba de AMOVA entre los hospedantes muestreados con presencia de <i>P. capsici</i> en el NE de Buenos Aires, Argentina	142
<b>Tabla 16.</b> Resultados del análisis de la varianza de la virulencia de 14 aislamientos de <i>P. capsici</i> , inoculados en: pimiento, zapallito, berenjena y tomate	147
<b>Tabla 16a.</b> Comparaciones múltiples por hospedante	148
<b>Tabla 16b.</b> Comparaciones múltiples por hospedante	149
<b>Tabla 16c.</b> Comparaciones múltiples por hospedante	150
<b>Tabla 16d.</b> Comparaciones múltiples por hospedante	151
<b>Tabla VI.1.</b> Especies de <i>Phytophthora</i> citadas para los hospedantes de interés, a nivel mundial (Erwin & Ribeiro, 1996)	171

## INDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1.</b> Árbol filogenético de <i>Phytophthora</i> basado en 7 loci nucleares	29
<b>Fig. 2.</b> Características morfológicas de valor taxonómico en el estado asexual y sexual	33
<b>Fig. 3.</b> Distribución geográfica del cultivo de especies hortícolas en Argentina	44
<b>Fig. 4.</b> Ubicación geográfica de la zona de muestreo de <i>Phytophthora</i> spp.	58
<b>Fig. 5.</b> Región amplificada por los primers ITS5/ITS4.	67
<b>Fig. 6.</b> Ubicación geográfica de las quintas muestreadas.	75
<b>Fig. 7.</b> Ejemplificación de la diversidad de cultivos hortícolas en una quinta del partido de Luján; Productor Tacistro.	80
<b>Fig. 8.</b> Cultivo de zapallito con presencia de verdolaga en el entresurco	81
<b>Fig. 9.</b> Cultivo de tomate con presencia de verdolaga en el entresurco	82
<b>Fig. 10.</b> Cultivo de tomate con presencia de ortiga y capiquí	82
<b>Fig. 11.</b> Cultivo de zapallito con presencia de capín en el surco	83
<b>Fig. 12.</b> Presencia / Ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. por año.	86
<b>Fig. 13.</b> Presencia / ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. por localidad.	87
<b>Fig. 14.</b> Presencia / ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. por productor.	88
<b>Fig. 15.</b> Presencia / ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. por hospedante.	89
<b>Fig. 16.</b> Presencia / ausencia de <i>Phytophthora</i> spp. por órgano afectado.	90
<b>Fig. 17.</b> Marchitamiento de plantas de zapallito causado por <i>P. capsici</i> , en un estadio inicial de la enfermedad y podredumbre de pecíolos	91
<b>Fig. 18.</b> Lote con marchitamiento y muerte de plantas de zapallito causado por <i>P. capsici</i>	91
<b>Fig. 19.</b> Fruto de zapallito con mancha aguanosa causada por <i>P. capsici</i>	92
<b>Fig. 20.</b> Fruto de zucchini con mancha aguanosa en la porción proximal del pedúnculo, causada por <i>P. capsici</i>	93
<b>Fig. 21.</b> Marchitamiento de plantas de berenjena afectadas en la corona por <i>Phytophthora</i> spp.	94
<b>Fig. 22.</b> Podredumbre de corona de berenjena causada por <i>Phytophthora</i> spp.	94
<b>Fig. 23.</b> Mancha necrótica en tallo de berenjena causada por <i>Phytophthora</i> spp.	95
<b>Fig. 24.</b> Marchitamiento de berenjena causado por <i>Phytophthora</i> spp.	96
<b>Fig. 25.</b> Brotes marchitos por <i>P. capsici</i>	96
<b>Fig. 26.</b> Podredumbre húmeda de berenjena causada por <i>Phytophthora</i> spp.	97

<b>Fig. 27.</b> Lesiones con presencia de micelio externo causadas por <i>Phytophthora</i> spp. en berenjena	98
<b>Fig. 28.</b> Fruto de berenjena afectado por <i>Phytophthora</i> spp. y momificado	98
<b>Fig. 29.</b> Lesiones en tallo de tomate causadas por <i>Phytophthora</i> spp.	100
<b>Fig. 30.</b> Lesión en tallo de tomate causada por <i>Phytophthora</i> spp., con presencia de moho blanco	101
<b>Fig. 31.</b> Fruto inmaduro de tomate con lesión causada por <i>Phytophthora</i> spp.	102
<b>Fig. 32.</b> Fruto maduro de tomate con lesión debida a <i>Phytophthora</i> spp.	102
<b>Fig. 33.</b> Podredumbre de frutos de tomate causada por <i>Phytophthora</i> spp.	103
<b>Fig. 34.</b> Lesiones en tallos de pimiento causadas por <i>Phytophthora</i> spp.	104
<b>Fig. 35.</b> Lesiones en frutos de pimiento causadas por <i>Phytophthora</i> spp.	105
<b>Fig. 36.</b> Frutos de pimiento con podredumbre causada por <i>Phytophthora</i> spp.	105
<b>Fig. 37.</b> Síntomas causados por <i>Phytophthora</i> spp. por órgano para cada hospedante	106
<b>Fig. 38.</b> Porcentaje de especies de <i>Phytophthora</i> identificadas	114
<b>Fig. 39 a-d.</b> Patrones de crecimiento de las colonias de especies de <i>Phytophthora</i> en AV8	116
<b>Fig. 40 a, b.</b> Micelio toruloso de <i>P. capsici</i>	116
<b>Fig. 41 a-c.</b> Ramificación simpodial de los zoosporangióforos de aislamientos de <i>P. capsici</i>	117
<b>Fig. 42.</b> Zoosporangióforo de forma umbeliforme y zoosporangios caducos de <i>P. capsici</i> (400x)	117
<b>Fig. 43.</b> Zoosporangios de <i>P. capsici</i> provenientes de aislamientos de zapallito (400x).	118
<b>Fig. 44.</b> Zoosporangios de <i>P. capsici</i> provenientes de aislamientos de berenjena (400x).	119
<b>Fig. 45.</b> Zoosporangios de <i>P. capsici</i> provenientes de aislamientos de tomate (400x).	120
<b>Fig. 46.</b> Zoosporangios de <i>P. capsici</i> provenientes de aislamientos de pimiento (400x).	121
<b>Fig. 47.</b> Hinchamientos hifales de <i>P. nicotianae</i> (aislamiento B APA F1.2)	123
<b>Fig. 48.</b> Zoosporangio y clamidospora de <i>P. nicotianae</i> (aislamiento B APA F2.1)	124
<b>Fig. 49.</b> Zoosporangios y clamidosporas de <i>P. drechsleri</i> (Aislamiento B AG F8)	125
<b>Fig. 50.</b> Origen de los aislamientos de <i>P. capsici</i>	126
<b>Fig. 51.</b> Origen de los aislamientos de <i>P. nicotianae</i>	127
<b>Fig. 52.</b> Origen de los aislamientos de <i>P. drechsleri</i>	127

<b>Fig. 53.</b> Oogonios de <i>P. capsici</i> producidos por el cruzamiento con una cepa de referencia de <i>P. capsici</i> del MT opuesto; un aislamiento de zapallito (izq.) y un aislamiento de berenjena (der.)	131
<b>Fig. 54.</b> Oogonios de <i>P. nicotianae</i> , producidos por el cruzamiento de aislamientos procedentes de tomate con una cepa de referencia de <i>P. capsici</i> del MT opuesto	131
<b>Fig. 55.</b> Anteridios anfígenos de <i>P. capsici</i>	132
<b>Fig. 56.</b> Fotografía del gel de agarosa con los productos de la PCR de <i>P. capsici</i> (control) y dos aislamientos de <i>P. capsici</i> , mediante el uso de los primers universales ITS 4 e ITS 5 del ADNr. M: marcador de peso molecular	133
<b>Fig. 57.</b> Análisis filogenético	134
<b>Fig. 58.</b> Red filogenética con la serie de aislamientos de <i>P. capsici</i> procedentes de los cultivos de interés: zapallito, berenjena, tomate y pimiento, y de zucchini	138
<b>Fig. 59.</b> Evaluación de patogenicidad en plantines de berenjena	143
<b>Fig. 60.</b> Evaluación de patogenicidad en plantines de zapallito	144
<b>Fig. 61.</b> Evaluación de patogenicidad en plantines de tomate	144
<b>Fig. 62.</b> Evaluación de patogenicidad en plantines de pimiento	145
<b>Fig. 63.</b> Lesiones en frutos inoculados con aislamientos de <i>P. capsici</i>	146
<b>Fig. 64.</b> Manchas circulares en fruto de berenjena causadas por <i>Alternaria</i> spp.	153
<b>Fig. 65.</b> Conidios de <i>Alternaria</i> spp. (100x), aislados de frutos de berenjena	153
<b>Fig. 66.</b> Lesiones en frutos de berenjena, con evidencia de puntos negros, debidas a	154
<b>Fig. 67.</b> Conidios $\alpha$ y $\beta$ de <i>Phomopsis</i> spp. (100x), observados en fruto de berenjena	154
<b>Fig. 68.</b> Lesión en tallo de berenjena causada por <i>Phomopsis</i> spp.	155
<b>Fig. 69.</b> Grupos de picnidios de <i>Phomopsis</i> spp., observados en tallo de berenjena	155
<b>Fig. 70.</b> Mancha en fruto de berenjena, con presencia de puntos negros (acérvulos), causada por <i>Colletotrichum</i> spp.	156
<b>Fig. 71.</b> Setas y conidios de <i>Colletotrichum</i> spp. (100x), observados en fruto de berenjena	156
<b>Fig. 72.</b> Mancha en tallos de berenjena, causada por <i>Colletotrichum</i> spp.	157
<b>Fig. 73.</b> Acérvulos con setas de <i>Colletotrichum</i> spp. (100x), observados en fruto de berenjena	157
<b>Fig. 74.</b> Setas y conidios de <i>Colletotrichum</i> spp., desarrollados en tallos de berenjena, incubados en cámara húmeda	158
<b>Fig. 75.</b> Lesión en fruto de berenjena causada por <i>Phoma</i> spp.	158
<b>Fig. 76.</b> Lesión en fruto de berenjena producida por <i>Phoma</i> spp.	159
<b>Fig. 77.</b> Hojas abigarradas de berenjena. Agente causal: <i>Verticillium</i> spp.	160
<b>Fig. 78.</b> Decoloración de vasos en tallo de berenjena debida a <i>Verticillium</i> spp.	160
<b>Fig. 79.</b> Conidios de <i>Fusarium</i> spp. (400x) aislados de tallos de berenjena	161

<b>Fig. 80.</b> Marchitamiento de plantas de zapallito causado por <i>Fusarium</i> spp.	162
<b>Fig. 81.</b> Lesiones en la porción basal de tallos de zapallito causadas por <i>Fusarium</i> spp.	163
<b>Fig. 82.</b> Lesión en la porción distal de fruto de zucchini causada por <i>Phoma</i> spp.	164
<b>Fig. 83.</b> Lesión en fruto de zucchini, con presencia de puntos negros causada por <i>Phoma</i> spp.	164
<b>Fig. 84.</b> Tallo de tomate con micelio de <i>Fusarium</i> spp.	165
<b>Fig. 85.</b> Conidios de <i>Fusarium</i> spp. aislados de tallos de tomate	166
<b>Fig. 86.</b> Lesión en fruto de pimiento causada por <i>Colletotrichum</i> spp.	167
<b>Fig. 87.</b> Setas y conidios de <i>Colletotrichum</i> spp. (400x) producidas en frutos de pimiento	167



# RESUMEN

*Phytophthora capsici* causa enfermedades destructivas en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas de regiones de clima templado en todo el mundo. El patógeno es heterotálico y requiere la presencia de los dos tipos de apareamiento para reproducirse en forma sexual. La relación de tipos de apareamiento varía en distintas regiones geográficas y por lo tanto la chance para reproducirse sexualmente. Debido a tales características, su comportamiento depende de las condiciones del ambiente donde se encuentra presente.

Para caracterizar a *P. capsici* como patógeno de cultivos comerciales de *Cucurbita máxima* var. zapallito, *Solanum melongena*, *Solanum lycopersicum* y *Capsicum annum*, en el NE de la provincia de Buenos Aires, se realizó un estudio sistemático. Éste incluyó el muestreo, la descripción de los factores del ambiente donde se detectó el problema y de los síntomas observados en el campo, la identificación de las especies presentes y el análisis de otras variables que pudieran interactuar con el patógeno.

Los muestreos en los lotes de los cultivos de interés se realizaron de modo secuencial, entre enero – abril de 2010 y 2011, y abarcaron tres partidos: Luján, General Rodríguez y Exaltación de la Cruz. Se describió la zona de muestreo; sus características socioeconómicas y productivas, los suelos presentes y el clima: las precipitaciones y las temperaturas. Se analizaron las variables presentes en el muestreo y se describieron los síntomas producidos en los cultivos de interés por las especies de *Phytophthora* y por otras patologías presentes. Se estableció la prevalencia de *Phytophthora* spp. por hospedante en la zona de estudio, entre los dos años de muestreo. A partir de las muestras de tejido vegetal colectadas de fruto, tallo, brote y plantín, cuya sintomatología coincidió con la descrita para *Phytophthora* spp., se realizaron los aislamientos. Se evaluó el crecimiento de *Phytophthora* spp. en AMT (agar manzana tomate), un medio de cultivo nuevo y alternativo al AV8®. Se analizaron además tres métodos alternativos para la conservación de los aislamientos. Las especies presentes fueron identificadas mediante la caracterización morfológica de las estructuras asexuales y sexuales, de modo cualitativo y cuantitativo. Se determinó la proporción de tipos compatibles, A1 /

A2, presente en la zona y la sensibilidad de los aislamientos de *P. capsici* al metalaxil, a una concentración de 100 ppm. Las identificaciones incluyeron también estudios moleculares derivados de la secuenciación de la región ITS y del gen 5.8S. Se utilizó una serie de 69 aislamientos de *Phytophthora* spp. Con las secuencias de esta región del ADN se construyó un árbol filogenético. Se realizó además, un análisis preliminar de la variabilidad genética con el programa ADNSPv5 v5.10.01 y de la estructura genética, con el programa Arlequín 3.5. En plantines de los cultivos de interés, se analizó la patogenicidad con 4 aislamientos de *P. capsici* mediante dos métodos; uno consistió en la inoculación de la base de los tallos con trocitos de agar con micelio y el otro en la adición de semillas previamente inoculadas al suelo. En los frutos, se analizó la patogenicidad y la virulencia de una muestra representativa de 14 aislamientos de *P. capsici*. Para determinar la presencia de las oosporas se enterraron porciones de tallos y frutos, de un cultivo de *S. melongena* donde previamente se constató la presencia de *P. capsici*, en macetas y se incubó por un período de 90 días.

Las 37 quintas que integraron la zona de muestreo se caracterizaron por su dinamismo ocupacional, la diversificación de cultivos y la atomización de la producción en el espacio geográfico, cuestión que permitió diferenciar la zona de muestreo de otras a nivel mundial donde predomina el monocultivo. Las precipitaciones y las temperaturas no variaron entre los dos años de muestreo. Los suelos no presentaron diferencias relevantes entre los tres partidos, de acuerdo con la escala de trabajo utilizada y con la topografía plana del lugar. Éstas fueron conductivas para el desarrollo de la enfermedad, al igual que las prácticas de cultivo. Se tuvieron en cuenta 5 variables: el año, la localidad, el productor, el hospedante y el órgano afectado. Las dos primeras no tuvieron asociación con la presencia / ausencia de *Phytophthora* spp., de acuerdo con el análisis de las tablas de contingencia, mientras que con las tres restantes hubo asociación. Para todos los hospedantes, la prevalencia de *Phytophthora* spp. se incrementó al segundo año, con la excepción del cultivo de *S. melongena*; el valor máximo, próximo al 50 %, correspondió a *C. máxima* var. zapallito. Los síntomas se expresaron en las partes aéreas de las plantas y con mayor frecuencia en la etapa reproductiva, lo que estuvo asociado a las condiciones del clima.

La caracterización morfológica mostró patrones consistentes para la especie *P. capsici*, con excepción de algunos aislamientos que fueron identificados como: *P.*

*nicotianae* y *P. drechsleri*. La forma de los zoosporangios de *P. capsici* fue variable; desde obpiriforme, limoniforme, ovovoide a ovoide, con pedicelos que variaron en longitud entre 22 - 69,7  $\mu\text{m}$ . *P. capsici* fue la especie predominante en todos los hospedantes muestreados, con la excepción de *S. lycopersicum* y la única especie identificada para *C. máxima* var. Zapallito. En el caso de *S. lycopersicum*, predominó *P. nicotianae*. Los aislamientos de *P. capsici* fueron del tipo A1. El tipo A2 solo estuvo presente en un aislamiento de *P. nicotianae*, en una proporción de 1 a 8 (A1/A2).

Las identificación morfológica coincidió con la molecular, pero ésta última permitió identificar además a *P. cryptogea*. El análisis filogenético de las secuencias de la región ITS de los aislamientos de *P. capsici* mostró un patrón reticulado de haplotipos frecuentes y centrales en la red, con haplotipos menos frecuentes y más recientes en los extremos de la misma, lo cual, en conjunto con la presencia de eventos de recombinación, sugiere la ocurrencia de un proceso de diversificación en la zona de muestreo, a pesar de la presencia de un único tipo de apareamiento. No se observó una estructuración genética entre los hospedantes.

Todos los aislamientos de *P. capsici* analizados resultaron ser sensibles al metalaxil. La evaluación de patogenicidad en plantines con ambos métodos alternativos, en general, determinó un mejor desempeño con los trocitos de agar, con la excepción de los plantines de *S. melongena*, que no evidenciaron síntomas. En cambio, en los frutos, los 14 aislamientos inoculados produjeron un 100 % de patogenicidad. La virulencia entre los aislamientos inoculados en cada hospedante fue variable. No fueron detectadas las oosporas en las muestras de tejido vegetal analizadas.

Los síntomas producidos por las especies de *Phytophthora* - podredumbres húmedas - se pudieron diferenciar de las otras patologías, según: la clase de órgano que fue afectado (fruto, tallo y brote), la forma, el aspecto, el color de las lesiones y / o la ubicación en la planta.

La identificación de *P. capsici* en *Solanum lycopersicum*, *S. melongena* y *Cucurbita pepo* var. Medullosa, constituyen las primeras citas para Buenos Aires.

*P. drechsleri* constituye la primera cita para la berenjena en el país, y la primera cita para el pimiento, en el país y a nivel mundial.

## ABSTRACT

*Phytophthora capsici* causes destructive diseases in Solanaceous and Cucurbitaceous crops in warm climates worldwide. The pathogen is heterothallic and the two mating types (MTs) are required for sexual reproduction. MTs ratios vary amongst geographical regions and so does the chance for sexual reproduction. Because of that, its behaviour depends on the characteristics of the environment.

In order to characterize *P. capsici* as a pathogen of commercial crops of *Cucurbita máxima* var. Globe squash, *Solanum melongena*, *Solanum lycopersicum* and *Capsicum annum*, a systematic study was carried out in the Northeast of Buenos Aires province. It comprised the sampling, the description of the environmental factors of the zone and of the symptoms expressed on the field, the species identification and the analysis of other variables that could interact with the pathogen.

The samplings on the commercial lots of the interest hosts were carried out sequentially, between January – April of 2010 and 2011, within three districts: Luján, General Rodríguez and Exaltación de la Cruz. The sampling area was described regarding its socio economic features, the crops productivity, the soils and the climate parameters: precipitations and temperatures. The sampling variables were analysed and the symptoms expressed by the crops being affected by *Phytophthora* species and other pathologies were described. The prevalence of *Phytophthora* spp. in every host was established between the two years of sampling. The isolates were obtained from the vegetable tissue samples of fruits, stems, shoots and seedlings collected, whose symptomatology was known to be produced by *Phytophthora* spp. The growth of *Phytophthora* was evaluated in a new alternative culture media to AV8®, AMT (agar tomato apple). Besides, three alternative methods for maintenance of the isolates were analysed.

The species were identified through the analysis of the qualitative and quantitative morphological characters of the asexual and sexual structures. The sexual MT frequency, A1 / A2, and the metalaxil sensitivity to a 100 ppm concentration of the *P. capsici* isolates were determined. These identifications were complemented with molecular studies derived from the sequencing of the ITS region and the 5.8S gen of a series of 69 *Phytophthora* spp. isolates. Using the sequences

of this DNA region the phylogenetic tree was built. Furthermore, a preliminary analysis of the genetic variability was done with the programme ADNSPv5 v5.10.01 and the genetic structure was assessed with Arlequin 3.5. In seedlings of the hosts of interest, the pathogenicity was assessed by inoculating 4 isolates of *P. capsici* through two different methods: one consisted on mycelium agar pieces and the other one on seed previously inoculated. In the fruits, another test was carried out to evaluate the pathogenicity and virulence of 14 isolates of *P. capsici* coming from the four hosts sampled. The presence of the oospores was traced by burying pieces of stems and fruits, of a *S. melongena* crop where *P. capsici* was previously identified, in pots and incubated for 90 days.

The horticultural fields within the sampling area (37) were characterised by their dynamism, the diversification of crops and the farmers scattered through the geographical space, a fact that let this zone to be differentiated from others throughout the world, where single-crop farming is common practice. The climate parameters were similar between the two years of sampling. The soils didn't show relevant differences among the three districts, according to the study scale used and to the flat topography. These, along with the cultural practices being implemented led to the development of the disease. In the sampling area five variables were considered: year, locality, farmer, host and organ being affected. The first two were not associated with the presence / absence of *Phytophthora* spp., according to the analysis of the contingency tables, whereas with the other three there was. For every host, the prevalence of *Phytophthora* spp. was higher on the second year of study, except for *S. melongena* and its higher prevalence was around 50 % for the case of *Cucurbita máxima* var. Zapallito. The symptoms were expressed in the aerial portions of the plants and more frequently in the reproductive stage, in association with the climate conditions.

The morphological characterization showed consistent patterns for *P. capsici*, with the exception of some isolates identified as other species: *P. nicotianae* and *P. drechsleri*. The *P. capsici* zoosporangial shape was variable; from obpyriform, lemoniform, obovoid and ovoid, with pedicels length varying between 22 – 69,7 µm. *P. capsici* was prevailing in every host sampled, except for *S. lycopersicum* and was the only species identified in *C. máxima* var. Globe squash. In the case of *S. lycopersicum* prevailed *P. nicotianae*. All the *P. capsici* isolated were of the A1 MT.

The A2 MT was only present in an isolate of *P. nicotianae*, in an A1 / A2 MT ratio of 1:8.

The isolates morphologically identified matched the isolated identified by the molecular methods but, besides, the last one led to the identification of one more species: *P. cryptogea*. The ITS sequences phylogenetic analysis of the *P. capsici* isolates series showed a reticulate pattern with frequent haplotypes central in the network, with more recent, less frequent haplotypes on the tips of the network. This pattern along with the presence of recombinant events suggests a diversification process that has taken place in the region under study, although the presence of a unique MT. There wasn't a genetic structure within the hosts observed.

All the *P. capsici* isolates analysed were sensitive to metalaxil. The pathogenicity test carried out with seedlings under both alternative methods had better results with the micelial agar pieces, with the exception of the seedlings of *S. melongena* which didn't expressed symptoms. On the other side, the assay performed on fruits with 14 *P. capsici* isolates resulted in a 100% of pathogenicity. The virulence among the isolates inoculated on every host was variable. Regarding the vegetable tissue samples, the oospores were not detected.

The symptoms expressed by *Phytophthora* species – aqueous rots – were differentiated from other pathologies, depending on the organ type being affected, (fruit, stem, shoot), the shape, the appearance and the colour of the lesions and the position in the plant.

The identification of *P. capsici* in *Solanum lycopersicum*, *S. melongena* and *Cucurbita pepo* var. *Medullosa*, stands for the first report in the province of Buenos Aires.

*P. drechsleri* in *Solanum melongena* means the first citation in the country, and the first citation for *Capsicum annum* in the country and worldwide.

The background of the slide is a microscopic image of biological cells. It features several large, irregularly shaped cells with prominent, dark purple nuclei. Some cells have thin, elongated cytoplasmic extensions. There are also numerous smaller, oval-shaped structures scattered throughout the field of view. The overall color palette is light, with the cells appearing in shades of purple, blue, and yellow against a pale background.

# **INTRODUCCIÓN**

## I. INTRODUCCIÓN

### I.1. Importancia del género *Phytophthora* y de *P. capsici* a nivel mundial

Las enfermedades de las plantas causadas por las especies de *Phytophthora* de Bary representan una amenaza cada vez mayor para la agricultura y los ecosistemas nativos y forestales (Erwin & Ribeiro, 1996). La importancia de las epifitias que desencadenan estas especies está íntimamente ligada al rango de hospedantes que poseen y a la relevancia de los cultivos que son afectados (Erwin & Ribeiro, 1996).

Por la amenaza que significan estas especies a nivel mundial en los ecosistemas nativos, forestales y agrícolas, Park *et al.* (2008) crearon una base de datos para facilitar la cooperación internacional en la documentación de la diversidad y la dinámica de las especies de *Phytophthora*, denominada: *Phytophthora Database*. En esta base, figuran 123 especies descritas formalmente en todo el mundo (*Phytophthora Database*, 2015).

Entre los patógenos que históricamente han producido severos daños en la producción prepondera *P. infestans* (Mont.) de Bary, agente causal de la “hambruna de la papa (*Solanum tuberosum* L.)” que ocasionó en Irlanda numerosas muertes entre 1845 y 1846, desencadenando una migración étnica significativa (Erwin & Ribeiro, 1996). A partir de esta especie, por el impacto que produjo, se estableció el nombre del género; la palabra deriva del griego; *phyto*: planta y *phthora*: destrucción y se conjuga como destructor de plantas. Actualmente, la enfermedad es un problema global debido al elevado costo que implica su control y a la alta diversidad genética que posee el patógeno (Erwin & Ribeiro, 1996; Grünwald & Flier, 2005; Fry & Grünwald, 2010).

Otra especie de *Phytophthora* que fue ampliamente estudiada por su impacto en los ecosistemas agrícolas, nativos y forestales es *P. cinnamomi* Rands. Esta especie se aisló por primera vez a principios del siglo XX, como agente causal de una de las epidemias más severas en la historia de los bosques nativos de *Eucalyptus marginata* en el oeste de Australia (Podger, 1972; Erwin & Ribeiro, 1996). La lista de hospedantes para este patógeno es la más extensa entre las especies de



*Phytophthora*, y actualmente se encuentra distribuida a nivel mundial (Hardham, 2005; Lamour, 2013).

***P. ramorum*** Werres, De Cock & Man In't Veld fue identificada en forma más reciente; produce la muerte súbita del roble (*Quercus* spp.) en bosques nativos de Estados Unidos (Rizzo *et al.*, 2002) y también causa la muerte progresiva de ramas en un gran número de especies de plantas ornamentales (Werres, *et al.*, 2001; Rizzo *et al.*, 2005; Tooley & Kyde, 2007). La enfermedad se descubrió simultáneamente en Europa y en California a finales del siglo XX y constituye un ejemplo de la amenaza que representa *Phytophthora* spp. para los ecosistemas forestales y para la industria de viveros.

***P. lateralis*** Tucker & Milbrath fue reconocida por primera vez hacia 1920 como el agente causal de la mortalidad extensiva de forestaciones de Port-Orfordcedar (*Chamaecyparis lawsoniana*) o “cedro” de Oregón en la región Oeste de Estados Unidos (Erwin & Ribeiro, 1996; Hansen, 2000). Otros reportes a nivel mundial incluyen a forestaciones en Taiwán (Brasier *et al.*, 2010) y Europa (Robin *et al.*, 2011). Esta especie es similar a *P. cinnamomi* en su epidemiología, pero su rango de hospedantes está restringido a las especies de coníferas.

Por otro lado, ***P. palmivora*** Butler posee un amplio rango de hospedantes pero su importancia radica en las pérdidas que ocasiona en el cacao (*Theobroma cacao* L.), un cultivo de elevado valor económico (Erwin & Ribeiro, 1996; Kroon, *et al.*, 2004).

***P. cactorum*** Lebert & Cohn, produce pérdidas severas en cultivos de más de 60 familias botánicas, principalmente en el cultivo de plantas frutales y forestales en vivero. Fue una de las primeras especies identificadas, seguida por *P. nicotianae*, con la cual formó el primer híbrido natural identificado, reportado por primera vez en sistemas de cultivos hidropónicos en Holanda (Man In't Veld *et al.*, 1998).

***P. nicotianae*** Breda de Haan afecta a más de 250 géneros en 90 familias y es considerado el patógeno más común en plantas ornamentales en todo el mundo, y en cultivos hortícolas de economías tropicales (Cline *et al.*, 2008). Sin embargo, esta especie no ha sido involucrada con mortandades extendidas, por lo que es posible que requiera de condiciones del ambiente específicas o tenga algún grado de especificidad con el hospedante (Lamour, 2013).

Una especie que se caracteriza por su rango de hospedantes acotado es ***P. sojae*** Kaufm. & Gerd.; un patógeno específico de soja (*Glicine max* L. Merr) (Erwin &

Ribeiro, 1996; Tyler, 2007), que produce anualmente pérdidas millonarias, como resultado de la relevancia de este *commodity* a nivel mundial.

***P. capsici*** Leonian, especie objeto del presente estudio, es una de las amenazas más importantes en todo el mundo para el cultivo de especies de la familia Solanáceas y Cucurbitáceas (Pavon & Babadoost, 2006), tanto en ambientes templados, como subtropicales y tropicales (Babadoost & Zitter, 2009). Entre los hospedantes más importantes de este patógeno se encuentra el pimiento (*Capsicum annuum* L.), la berenjena (*Solanum melongena* L. var. *esculentum* Nees), la calabaza (*Cucurbita pepo* L. var. *condensa* Bailey), y la sandía (*Citrullus lanatus*, Thumb. Matsum & Nakal) (Ploetz *et al.*, 2002).

*P. capsici* también puede afectar a especies de otras familias botánicas. Por ejemplo, Davidson *et al.*, (2002) reportaron la infección de *Phaseolus lunatus* (*Leguminosae*=*Fabaceae*) en la región del Atlántico medio (que comprende a los estados de Delaware, Maryland, Nueva Jersey, Nueva York y Pensilvania) en Estados Unidos y Gevens & Hausbeck (2005) aislaron a *P. capsici* de *Phaseolus vulgaris* en el estado de Michigan, Estados Unidos.

*P. capsici* fue descrita por primera vez en pimiento por Leonian (1922), en Nuevo México, Estados Unidos. En Cucurbitaceae fue citada por primera vez por Tompkin & Tucker (1937), en Colorado y California, Estados Unidos, y hacia 1940 fue también descrita en berenjena, en frutos de melón, de sandía y de tomate (Kreutzer *et al.*, 1940; Hausbeck & Lamour, 2004). Si bien en un principio, esta especie fue considerada como patógeno específico del pimiento por Tucker (1931), en la actualidad se conoce un amplio número de hospedantes, con más de 50 especies distribuidas en 15 familias (Babadoost & Zitter, 2009).

## 1.2. Importancia del género *Phytophthora* y de *P. capsici* en Argentina

En Argentina, por la diversidad de climas y de cultivos desarrollados, se encuentran presentes la mayoría de las especies de *Phytophthora* con relevancia a nivel mundial. Al respecto, Frezzi (1950) ha realizado un amplio trabajo descriptivo incluyendo a once especies, entre las cuales describe a las previamente citadas, con la excepción de *P. ramorum*, *P. lateralis* y *P. sojae*. Por otro lado, Fernández Valiela

(1978) ha realizado un gran aporte con la descripción exhaustiva de algunas de las enfermedades causadas por las especies del género. Si bien no existen registros del impacto que éstas producen en términos económicos, por el carácter agroexportador de nuestro país, la presencia de estas enfermedades supone un desafío importante para la producción.

Al igual que a nivel mundial, ***P. infestans*** fue la primera especie identificada en nuestro país como agente causal del “tizón tardío de la papa” a fines del siglo XIX y continúa teniendo relevancia por el elevado costo que implica su control para evitar las pérdidas de rendimiento en los cultivos del SE de Buenos Aires (Lucca & Huarte, 2012). Además, ha sido identificada afectando a especies de la familia Solanáceas, en una vasta región del país (Zapata, 2013; Dal Bó *et al.*, 2014; Melegari *et al.*, 2014).

***P. palmivora***, también fue citada en una amplia región del país, en frutales (Frezzi, 1950; González, *et al.*, 1998; Lucero *et al.*, 2007) y en forestales (Sarasola & Sarasola, 1959).

***P. cinnamomi*** fue identificada en árboles frutales y forestales, en Córdoba (Frezzi, 1950) y en el NO del país, produciendo podredumbre de raíces y de cuello (Frezzi, 1950; Alcoba *et al.*, 2005).

En los bosques andino-patagónicos, la mortandad del ciprés de la cordillera (*Austrocedrus chilensis*), fue asociada principalmente a ***P. austrocedrae*** Greslebin & Hansen (Greslebin *et al.*, 2005), constituyendo una nueva especie. Los síntomas que produce este patógeno mostraron características similares a los ocasionados por otros taxones de *Phytophthora*, tal como *P. lateralis* (Hansen 2000; Greslebin *et al.*, 2007).

***P. nicotianae*** fue identificada en una amplia variedad de especies vegetales, desde ornamentales (Wolcan & Grego, 2004), frutales (Canteros, 2009), forestales y hortícolas en Córdoba (Frezzi, 1950) y hortícolas en Buenos Aires (Iribarren *et al.*, 2012).

En cultivos de cítricos, se ha identificado a ***P. cactorum***, como principal agente causal de podredumbres (Frezzi, 1950), al igual que en frutales de pepita (Lindquist, 1938; Frezzi, 1950; Rossini *et al.*, 1997). En cultivos de frutilla del NE de la provincia de Buenos Aires, se han realizado estudios sobre la persistencia de *P. cactorum* en condiciones naturales (González, 2007).

***P. sojae*** produce podredumbre de raíces y de tallos en cultivos de soja, principal *commodity* de exportación del país (Ploper *et al.*, 1999). En esta especie se destacan los estudios realizados por Barreto *et al.*, (1995, 1997, 1998a & 1998b) sobre la determinación de las razas presentes, continuados recientemente por Grijalba *et al.* (2014).

***P. capsici*** fue citada por primera vez por Lindquist en 1932, en pimientos cultivados en Buenos Aires, tan solo diez años después de la primera descripción a nivel mundial y por Frezzi (1950), el que la incluyó en su amplio trabajo sobre el género, a partir de aislamientos provenientes de Córdoba. Las citas para esta especie incluyen hospedantes de la familia Solanáceas y Cucurbitáceas, en una vasta región del país. Con aislamientos provenientes de pimiento, se ha realizado un estudio en la región centro-oeste para determinar la variabilidad genética del patógeno (Gobena *et al.*, 2012).

En cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas, también se han identificado otras especies: *P. nicotianae*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. cactorum*, *P. infestans* y *P. drechsleri*. Estos reportes están indexados en la base de datos de Fitopatología (Nome *et al.*, 2014) y derivaron de las diferentes regiones bioclimáticas de Argentina.

### 1.3. Taxonomía y clasificación del género *Phytophthora* y de *P. capsici*

Las clasificaciones de los seres vivos han sufrido sucesivos cambios a lo largo del tiempo. Inicialmente, fueron incluidas en cuatro Reinos: Protista, Monera, Animal y Vegetal, sobre la base de sus características morfológicas, nutricionales y ecológicas. En 1969, Whittaker propone incluir al Reino Fungi, en un intento por agrupar los organismos de un modo que reflejara sus posibles relaciones evolutivas (Alexopoulos *et al.*, 1996).

Los antiguos integrantes del Reino Fungi, llamados comúnmente “mohos acuáticos” (Clase Oomycetes), fueron posteriormente reubicados en los Reinos Protista (Margulis & Schwartz, 1988; Margulis *et al.*, 1989) y en el Reino

Chromista, junto a las algas con clorofila a y c (Chrysophyta y Phaephyta) (Cavalier-Smith, 1986). En este contexto, los Oomycota fueron denominados entonces “pseudohongos”, al ser considerados dentro de la Subdivisión Pseudofungi, Phylum Heterokonta del Reino Chromista (Kirk *et al.*, 2001). Dick (2001) los ubicó posterior y definitivamente en el **Reino Straminipila**.

El Reino **Straminipila** agrupa a organismos de características morfológicas diversas, que comparten un rasgo común; sus zoosporas son biflageladas heterocontas, con dos flagelos distintos. El término Straminipila deriva del latín y significa: stramen, flagelo y pilos, pelo (Wainwright *et al.*, 1993; Sogin & Silberman, 1998). El flagelo anterior es de tipo pincel y presenta dos hileras de mastigonemas tubulares y tripartitos, y el posterior es de tipo látigo, sin mastigonemas (Dick, 2001).

Este Reino está integrado por los **Phylum Oomycota**, Hyphochytridiomycota y Labyrinthulomycota, algunos grupos de algas cromófitas (Bacillariophyceae, Chrysophyceae, Fucophyceae y Tribophyceae) y organismos "protistas" fotosintéticos y saprótrofos (Dick, 1990).

Los organismos del Phylum **Oomycota** se diferencian de los hongos verdaderos por tener zoosporas biflageladas heterocontas, desarrollar un talo cenocítico diplode, donde la meiosis tiene lugar en el interior de los gametangios. Tienen una reproducción sexual característica, mediante contacto gametangial, produciéndose como resultado una cigota de paredes gruesas (oospora). Sus paredes celulares están compuestas por  $\beta$  1-3 y  $\beta$  1-6 glucanos, hidroxiprolina y celulosa, en menor proporción (4-20% del peso seco de la pared), mientras que los hongos verdaderos tienen quitina. También existen diferencias a nivel de algunas organelas celulares (cristales mitocondriales tubulares), varias características bioquímicas (entre otras, diferente composición de aldioles y polioles; diferente vía de síntesis de la lisina y de la triptófano sintetasa) y moleculares, siendo también diferentes las sustancias de reserva:  $\beta$  1-3 glucanos (mycolaminarinas) (Dick, 2001).

Este Phylum agrupa a especies unicelulares, holocárpicas y eucárpicas que presentan mayormente formas filamentosas de tipo cenocítico. Se trata, mayormente, de especies acuáticas o de ambientes húmedos (Alexopoulos, 1996; Dick, 2001). Presenta una sola **Clase**: Peronosporomycetes (ex Oomycetes), integrada por dos linajes básicos de organismos con talo miceliar: Subclases Saprolegniomycetidae y **Peronosporomycetidae** (Dick *et al.*, 1984). La primera

Subclase, se caracteriza por el hábito acuático de los organismos, el clivaje del citoplasma de los zoosporangios, que es de tipo centrífugo y por ser polioospóricos con el oosplasto granular y fluido (Dick, 2001). La **Subclase Peronosporomycetidae** está compuesta por organismos más evolucionados, con hábitos terrestres, que se comportan, en su mayoría, como parásitos de vegetales (Alexopoulos, 1996). Presentan clivaje de tipo diverso; en el oogonio la oósfera se diferencia por agregación centrípeta, a partir del periplasma periférico y son mayoritariamente monospóricos, con el oosplasto traslúcido (Dick, 2001).

De acuerdo a Alexopoulos *et al.* (1996), se reconocen cinco **órdenes** principales: Rhipidiales, Leptomitales, Saprolegniales y Lagenidiales y **Peronosporales**. Sin embargo, de acuerdo a Dick (2001), hay solo dos órdenes dentro de los *Peronosporomycetidae*: Peronosporales y Pythiales.

La mayoría de los integrantes de los Peronosporales son parásitos obligados de vegetales, mientras que los Pythiales son un orden con mayor diversidad, que incluye tanto parásitos obligados como saprótrofos. La diferencia más importante en ambos ordenes se encuentra a nivel de los zoosporangióforos; en los Peronosporales son bien diferenciados y en los Pythiales raramente lo son (Dick, 2001).

Dick (2001) incluye en el orden Peronosporales a dos familias: *Peronosporaceae* y *Albuginaceae*, mientras que en el orden Pythiales hay una gran familia: - *Pythiaceae* – y otra muy pequeña (*Pythiogetonaceae*). A diferencia de esta clasificación, Alexopoulos *et al.* (1996) presentan un criterio que se ha mantenido durante mucho tiempo. De acuerdo a estos autores solo se reconoce al orden Peronosporales, en el que se incluye a las familias *Albuginaceae*, *Peronosporaceae* y *Pythiaceae*. La primera posee zoosporangióforos de crecimiento indeterminado que producen zoosporangios en cadena, mientras que los zoosporangióforos de la segunda son ramificados y de crecimiento determinado, produciendo zoosporangios en todas sus ramas al mismo tiempo. En la tercera familia, *Pythiaceae*, los zoosporangios se forman directamente, en general, en una hifa somática; si bien en algunas especies no hay diferenciación entre las hifas somáticas y las fértiles, en las más especializadas se producen zoosporangióforos de crecimiento indeterminado, por lo que los zoosporangios producidos sobre ellos son de diferente edad.

Los géneros más comunes de la familia *Pythiaceae* son *Pythium* y ***Phytophthora*** y su nombre se debe a que el género *Pythium* fue descrito primero (Erwin & Ribeiro, 1996). El primero tiende a ser saprótrofo en el suelo o agua o parásito leve, principalmente de monocotiledóneas, mientras que *Phytophthora* es un competidor pobre del suelo pero un parásito agresivo, principalmente de dicotiledóneas (Brasier & Hansen, 1992; Alexopoulos *et al.*, 1996).

La principal diferencia morfológica entre ambos géneros se encuentra en la forma de diferenciación de las zoosporas; mientras que en *Pythium* ocurre cuando el protoplasma del zoosporangio migró a una vesícula, en *Phytophthora* se produce adentro del zoosporangio. Además, el micelio de *Phytophthora* es normalmente más tortuoso que el de *Pythium*, sus zoosporangios son terminales, en la mayoría de los casos de forma ovoide a obpiriforme, caducos o persistentes, mientras que en *Pythium* son, en general, globosos, lobulados e inclusive filamentosos, nunca terminales, siendo siempre persistentes. En *Phytophthora*, un solo anteridio se une basalmente al oogonio, con configuración anfígena o parágina, mientras que en *Pythium* puede haber más de un anteridio por oogonio, adhiriéndose con cualquier ubicación, en forma parágina, monoclina o diclina. Las paredes de los oogonios de *Phytophthora* son pigmentadas, mientras que las de *Pythium* son incoloras (Erwin & Ribeiro, 1996).

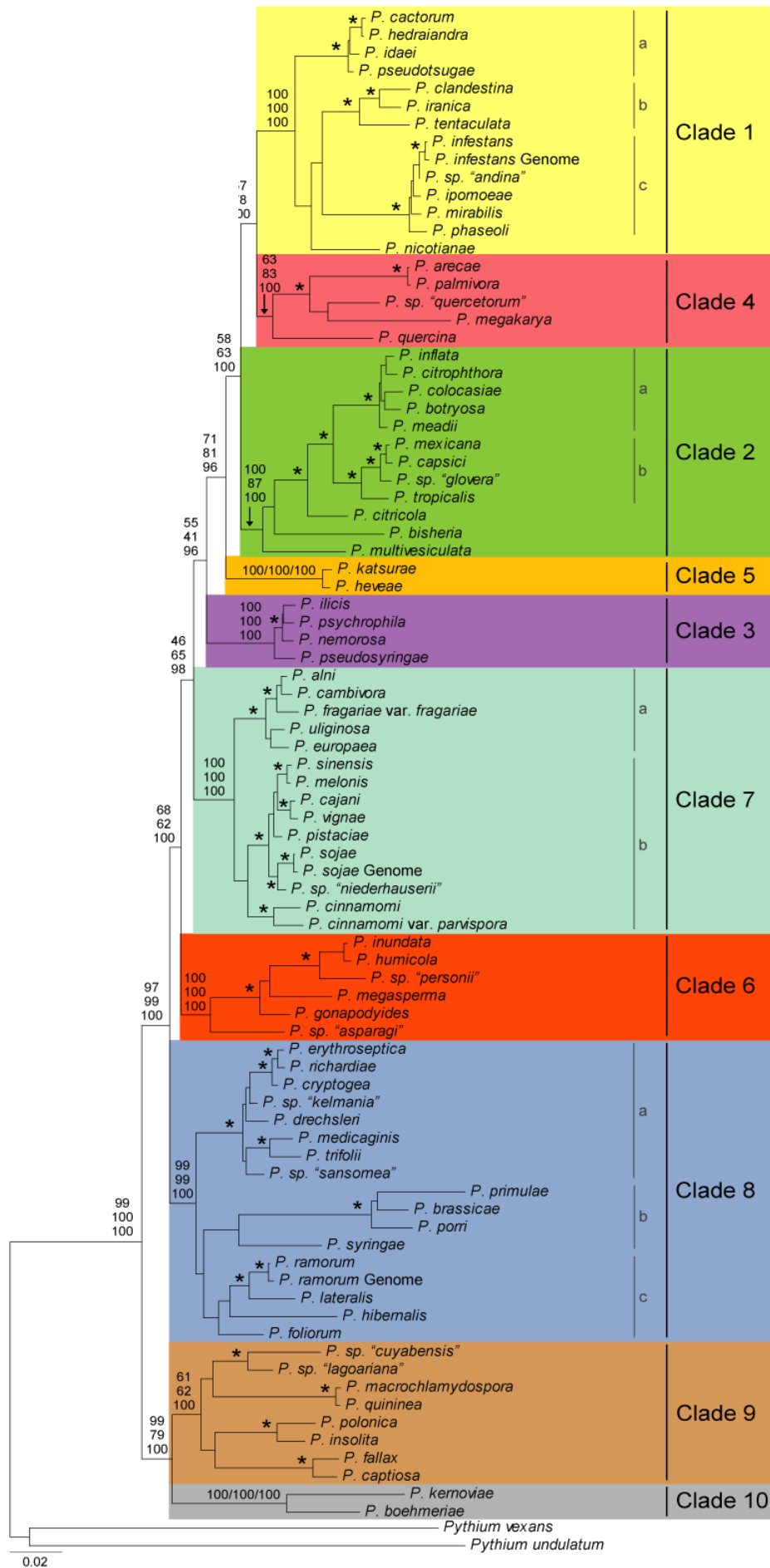
La taxonomía del género ***Phytophthora*** fue desarrollada inicialmente por Waterhouse (1963), que lo dividió en seis grupos, sobre la base de tres tipos de zoosporangios y dos tipos de configuración anteridial. Esta clave fue utilizada para la identificación y la clasificación de las especies por un período extendido y luego fue revisada y ajustada por Stamps *et al.*, (1990). En ambas, *P. capsici* se clasifica dentro del grupo II.

En referencia a las características biológicas y patológicas de las especies, Erwin & Ribeiro (1996) realizaron una revisión, que marcó el final del período en que las especies de *Phytophthora* fueron clasificadas estrictamente sobre la base de sus caracteres morfológicos (Brasier, 2007). A continuación, se comenzaron a utilizar las herramientas moleculares de identificación y adquirió relevancia la biología poblacional y la genética molecular. Como la morfología de los organismos es el resultado de la acción de los genes y su interacción con el ambiente, el análisis de

las secuencias de ADN de regiones conservadas de los organismos, ha provisto a los biólogos evolutivos, una herramienta complementaria y poderosa para arribar a un sistema de clasificación verdaderamente natural (Taiz & Zeiger, 2010).

Mediante análisis filogenéticos recientes del género, se ha revelado que las especies de *Phytophthora* pueden ser clasificadas en diez grandes clados donde *P. capsici* se ubica en el clado 2 (Blair *et al.*, 2008) (Fig. 1). A pesar de que el agrupamiento filogenético ha mostrado alguna similitud con el agrupamiento morfológico de Waterhouse (1963), la correlación de estos grupos con los clados no fue absoluta. Por ejemplo, no hubo una correlación consistente entre la estrategia reproductiva (homotálica versus heterotálica) o la adhesión del anteridio (parágino versus anfígino) con el agrupamiento filogenético (Martin *et al.*, 2008). Por otro lado, *P. capsici* y *P. tropicalis* Aragaki & Uchida fueron consideradas en un inicio como coespecíficas sobre la base de similitudes morfológicas y de datos isoenzimáticos (Mchau & Coffey, 1995; Aragaki & Uchida, 2001) y solo a partir de la información aportada por la secuencia de ADN se hizo evidente la separación de ambas especies. Por lo tanto, en la actualidad la clasificación de las especies de *Phytophthora* se basa en características morfológicas, fisiológicas y moleculares (Martin *et al.*, 2012).





**Fig. 1.** Árbol filogenético de *Phytophthora* basado en 7 loci nucleares

Fuente: Blair *et al.*, (2008).

*P. capsici* se agrupa con sus especies hermanas relacionadas (*P. mexicana* y *P. tropicalis*). Las especies de *Phytophthora* que tienen o están siendo secuenciadas se anotan al lado de los clados.

#### I.4. Caracterización morfológica de *Phytophthora* spp. y de *P. capsici*

Los caracteres morfológicos que definen a las especies de *Phytophthora* no varían con el medio de cultivo empleado (Martin *et al.*, 2012). A pesar de esto, como el agar V8 (AV8) es el medio agarizado de uso más frecuente para el crecimiento de *Phytophthora* y de otros hongos (Erwin & Ribeiro, 1996) constituye el medio de referencia. El mismo fue descrito por primera vez por Diener (1955) y fue modificado por Miller en el mismo año (citado en Erwin & Ribeiro, 1996). Otros medios de cultivo alternativos son el agar harina de maíz (AHM), utilizado por Tucker (1931) y Waterhouse (1963) y el agar papa dextrosado (APD) (Erwin & Ribeiro, 1996).

Dentro de las estructuras vegetativas que caracterizan a las especies de *Phytophthora*, el **micelio**, justamente por su variación según el medio empleado, no puede ser considerado en la taxonomía (Martin *et al.*, 2012). Sin embargo por poseer algunas características comunes dentro del género es un carácter a describir, pero que va acompañado de otros de mayor peso en la sistemática. Según los casos, puede ser hialino, cenocítico, de grosor variable, con gotas oleosas y con ramificaciones. Al envejecer pierde el contenido citoplasmático y produce falsos tabiques. En algunas especies el micelio se presenta toruloso en todos los medios, con protuberancias y vesículas características, por ejemplo en *P. cinnamomi*. En otras, se caracteriza por ser muy ramificado, con aspecto arborescente (*P. nicotianae*), o más bien liso y poco ramificado (*P. drechsleri*) (Tucker, 1931).

A partir de ramificaciones hifales, denominadas **zoosporangióforos**, se forman los **zoosporangios** (Blackwell, 1943). Casi todas las especies estudiadas

producen zoosporangios, pero la facilidad o dificultad para formarlos varía entre las mismas. La **forma** esporangial (limoniforme, elipsoidal, ovoide, obpiriforme, irregular, globosa, etc.), el **tamaño**, razón de long. / diám. y el **estrechamiento de la base** son características importantes para la identificación. En el extremo distal de la estructura se forma un poro taponado por un material similar al de las paredes, el que adquiere la forma de una papila más o menos prominente. Según su **espesor**, los zoosporangios se clasifican como: papilados ( $\geq 3,5 \mu\text{m}$ ), semipapilados ( $< 3,5 \mu\text{m}$ ), o no papilados (con un leve engrosamiento apical). Este es el carácter más robusto para iniciar la identificación de las especies y los agrupamientos filogenéticos están relacionados, con algunas excepciones, con los tipos de papila (Martin *et al.*, 2012).

Otra característica útil para la identificación es la **proliferación** de los zoosporangios (externa, interna o anidada) (Fig. 2. I – J) (Martin *et al.*, 2012).

En el interior de los zoosporangios se forman las **zoosporas**, esporas móviles, que luego son expulsadas a través del poro apical. No poseen pared celular, son reniformes, uninucleadas, con una hendidura longitudinal - central donde se insertan dos flagelos de diferente longitud. El flagelo anterior es más corto, tipo cepillo o straminipila, pleuronematado (Dick, 2001) y el flagelo posterior es más largo, liso, tipo látigo, y se alcanzan a visualizar con microscopio electrónico. Estos flagelos permiten la movilidad en medios líquidos por varias horas, mediante desplazamientos helicoidales y cambios de dirección frecuentes. Cuando las zoosporas alcanzan una fuente de nutrientes o chocan contra una superficie se detienen, pierden sus flagelos y se rodean de una pared propia. Se transforman en **quistes**, los que constituyen las estructuras infectivas, una vez que entran en un período de revitalización celular (Erwin & Ribeiro, 1996).

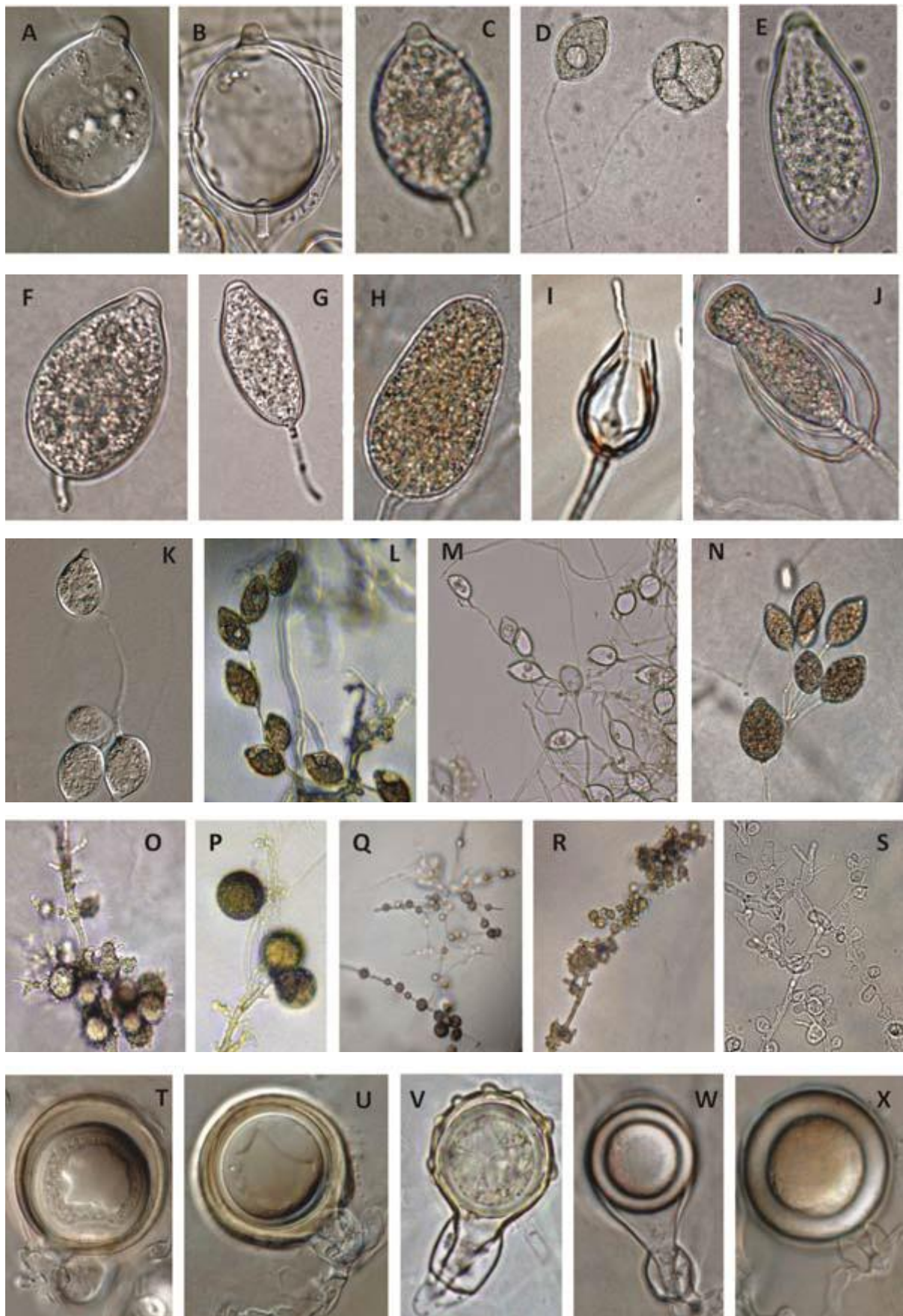
**Los zoosporangióforos** pueden presentarse en simpodios simples o compuestos, en umbelas o con ramificación irregular. Los zoosporangios pueden ser caducos, desprendiéndose con facilidad del zoosporangióforo, por una zona de clivaje, lo que les permite conservar el pedicelo (dependiendo de su longitud se clasifican como: corto,  $< 5\mu\text{m}$ ; mediano,  $5 - 20\mu\text{m}$  o largo  $> 20\mu\text{m}$ ) o persistentes. En este último caso, al no existir una zona de clivaje el desprendimiento ocurre por rotura de los pedicelos, los que resultan de largo variable (Fig. 2. K - N) (Martin *et al.*, 2012).

Los **zoosporangios** y las **zoosporas** constituyen el estado asexual de las especies de *Phytophthora*. Aunque algunas especies producen también estructuras de persistencia rodeadas íntegramente con una pared gruesa, denominadas **clamidosporas**, las que aportan una característica de valor sistemático. Se describen por la posición (lateral, intercalar o terminal) y la forma (esférica, subesférica o alargada), que son características diagnósticas que respaldan la identificación (Fig. 2. O - R). También, la prontitud y abundancia para producirlas constantemente en diversos medios constituye un carácter que define a algunas especies (Martin *et al.*, 2012).

El estado sexual de *Phytophthora* es la segunda característica más importante e involucra la producción de dos gametangios morfológicamente diferenciados: el **oogonio**, estructura femenina y el **anteridio**, estructura masculina (Martin *et al.*, 2012). Ambos se originan de extremos hifales cuando se ponen en contacto. Se denomina configuración parágina, cuando el anteridio se ubica lateralmente respecto del oogonio, y anfígena, cuando lo hace rodeando la hifa que sustenta al gametangio femenino. Esta característica tiene un valor diagnóstico importante. Casi todas las especies heterotálicas producen anteridios anfíginos. Las especies homotálicas producen ambos gametangios en un único aislamiento (Erwin & Ribeiro, 1996).

La reproducción sexual puede ocurrir mediante dos modalidades: a partir del micelio de un solo aislamiento (homotalismo) o por el contacto de dos aislamientos con los tipos de apareamiento opuestos, designados A1 y A2 (heterotalismo). En el laboratorio, ese cruzamiento requiere el co-cultivo de ambos tipos de apareamiento en un medio que incluya una fuente de esteroides (por ej.: AV8) (Erwin *et al.*, 1983).

La fecundación del oogonio resulta en una única **oospora**, con una gran capacidad de supervivencia porque está rodeada por paredes gruesas. Para la mayoría de las especies, con algunas excepciones, la morfología de los oogonios y las oosporas *per se* no difiere suficientemente entre las especies como para tener valor taxonómico. Algunas características diferenciales de los oogonios y las oosporas son: lisa u ornamentada, con un estrechamiento basal, plerótica o applerótica (Fig. 2. T – X). Se denomina applerótica cuando existe un espacio entre la pared de la oospora y el oogonio o plerótica cuando el espacio es ocupado por el oogonio (Martin *et al.*, 2012).



**Fig. 2.** Características morfológicas de valor taxonómico de especies de *Phytophthora* en el estado asexual y sexual.

**A - H**, Zoosporangio, papila y pedicelo. **A - D** = Papilados: **A**, *P. idaei* (persistente); **B**, *P. boehmeriae* (pedicelo corto); **C**, *P. kernoviae* (pedicelo mediano); **D**, *P. capsici* (pedicelo largo). **E - G** = Semipapilados: **E**, *P. ramorum* (pedicelo corto); **F**, *P. nemorosa* (pedicelo mediano); **G**, *P. hibernalis* (pedicelo largo). **H** = No papilado, *P. cinnamomi* var. *Parvispora*. **I y J**, Proliferación del zoosporangio. **K a N**, Zoosporangióforo. **K - M** = Simpodios simples: **K**, *P. boehmeriae*; **L**, *P. ramorum*; **M**, *P. kernoviae*; **N**, Umbela, *P. tropicalis*. Clamidosporas: **O**, *P. cinnamomi*; **P**, *P. ramorum*. Engrosamientos hifales: **Q**, *P. drechsleri*; **R**, *P. taxon kelmania*; **S**, *P. foliorum*. Anteridio parágino y oospora aplerótica: **T**, *P. tentaculata*. Anteridio anfígino y oospora aplerótica: **U**, *P. idaei*. Oospora con pared ornamentada: **V**, *P. cambivora*. Oogonio con estrechamiento basal: **W**, *P. hevea*. Oospora plerótica con pared gruesa: **X**, *P. kernoviae*.

Fuente: Abad, Z. G. USDA-APHIS-CPHST (Martin *et al.*, 2012).

En nuestro tema de estudio, los caracteres morfológicos que definen a *P. capsici* son: la producción de zoosporangios caducos, predominantemente papilados, con una forma que varía desde casi esférica a elongada, con una base estrechada en algunos casos y pedicelos largos (> 20 µm). Los anteridios son anfíginos y se forman cuando se confrontan ambos tipos de apareamiento A1 y A2 (Erwin & Ribeiro, 1996). A diferencia de *P. tropicalis*, una especie relacionada, los aislamientos de *P. capsici* son generalmente recuperados a partir de vegetales y raramente producen clamidosporas en medio de cultivo (Lamour *et al.*, 2012).

### **1.5. Caracterización fisiológica de *Phytophthora* spp. y de *P. capsici***

Las características fisiológicas más destacadas de las especies de *Phytophthora* son: las temperaturas cardinales de crecimiento, la abundancia de esporulación en medios líquidos, el aspecto de las colonias en medios de cultivo y los engrosamientos hifales. Las colonias se caracterizan de acuerdo con el patrón que presentan, debido a la ramificación de las hifas; pueden tener un patrón petaloide, estrellado, en roseta, irregular, concéntrico y con un micelio aéreo ralo,

harinoso o algodonoso. Si bien constituyen características comunes del género no están incluidas en la taxonomía dada su variación según el medio de cultivo empleado (Erwin & Ribeiro, 1996). La presencia de engrosamientos hifales son útiles en la identificación de algunas especies tal como el complejo *P. drechsleri* / *P. cryptogea* (Martin *et al.*, 2012).

*P. capsici* posee las siguientes temperaturas cardinales de crecimiento: la temperatura mínima para el crecimiento es 10°C, la óptima es 28°C y la máxima es mayor a 35°C. Los engrosamientos hifales son solo producidos por algunos aislamientos en medios líquidos (Erwin & Ribeiro, 1996).

#### **I.6. Caracterización molecular de *Phytophthora* spp. y de *P. capsici***

Las especies difieren entre sí por modificaciones en la molécula de ADN, por mutaciones tales como las sustituciones de bases, inserciones, translocaciones y deleciones. Los genes comprenden una pequeña porción del ADN genómico que codifica características y están sujetos a una presión de selección en respuesta a los cambios ambientales. Sin embargo la mayoría de las modificaciones que diferencian a los individuos sobre la base de su ADN ocurren en regiones no codificantes, regiones conservadas, que están libres de aquel tipo de selección (McDonald & Linde, 2002).

Antes que se globalizara el uso de las herramientas moleculares para las identificaciones, un número de especies fueron presentadas en la literatura como nuevas, sobre la base de estudios morfométricos, que con posterioridad se comprobó que correspondían a especies previamente descritas. Un ejemplo de ello fue la identificación de algunos aislamientos como *P. mexicana* (Hotson & Hartge 1923), una especie nueva, que luego se comprobó que correspondían a *P. capsici* (Erwin & Ribeiro, 1996).

En la medida en que se desarrollaron los secuenciadores automáticos, las técnicas moleculares de identificación de las especies se tornaron una práctica común. Estos métodos junto con el tradicional, posibilitaron el logro de una

identificación más precisa de las especies, especialmente cuando hay superposición de caracteres morfológicos (Ristaino & Johnston, 1999).

Se han estudiado varios métodos de identificación para *Phytophthora* basados en el ADN (Forster & Coffey, 1992; Ristaino *et al.*, 1998; Duncan & Cooke, 2002; Kong *et al.*, 2003). Entre éstos se destaca el de los polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP) que fue utilizado para construir un mapa filogenético para *P. infestans*. Con este método y el de microsatélites se caracterizaron un número importante de aislamientos y se rastrearon los linajes clonales dentro de las poblaciones. Otros métodos empleados en la identificación de *Phytophthora*, como también para otros Oomycota, incluyen el análisis de los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), la amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD), el polimorfismo de conformación de la cadena simple del ADN ribosomal (ADNr) y los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Kroon *et al.*, 2012).

El método molecular más preciso para la identificación de aislamientos a nivel de especie se logra a través del análisis de la secuencia de loci específicos. En los estudios realizados en *Phytophthora*, el ADN que codifica el RNA ribosomal (RNAr), compuesto por tres subunidades de genes (18S, 5,8S y 28S) separadas por dos espaciadores transcritos internos (ITS1 e ITS2), es el locus secuenciado con más frecuencia. Este permite detectar diferencias entre y dentro de las especies (Drenth *et al.*, 2006; Gallegly & Hong, 2008). Los genes que codifican el ARNr se presentan en repeticiones en tándem con varias copias en el genoma.

En un esfuerzo para proveer de una fuente de información del género *Phytophthora* se desarrolló un portal web llamado *Phytophthora* Database (Park *et al.*, 2008). Esta base de datos incluye un listado de las especies descritas, sus caracteres genéticos, morfológicos, su distribución geográfica y un listado de referencias sobre el género ([www.phytophthoradb.org](http://www.phytophthoradb.org)).

El primer estudio filogenético extensivo sobre el género basado en las secuencias ITS1 e ITS2 fue realizado por Cooke *et al.*, (2000). En éste se incluyeron 234 aislamientos de 50 especies de *Phytophthora* y proporcionó la base para la nomenclatura de clados actualmente en uso. En la actualidad, esta extensa base de datos para este locus incluye todas las especies descritas y continúa siendo un pilar para propósitos de investigación. Sin embargo, este locus no es el óptimo para



todas las especies, particularmente para las que están más próximas filogenéticamente, por ejemplo, *P. rubi* y *P. fragariae* que tienen secuencias de ITS idénticas. Recientemente, también se han secuenciado con fines filogenéticos algunos loci nucleares (proteína ribosomal L10 60S,  $\beta$ -tubulina, enolasa, proteína HS 90, subunidad del ARNr, gen de fusión TigA, factor de elongación 1 $\alpha$ ) (Kroon *et al.*, 2004; Blair *et al.*, 2008) y mitocondriales (*cox I*, *nad 1*, *cox II*, *nad 9*, *rps 10* y *sec Y*) (Martin & Tooley, 2003; Kroon *et al.*, 2004; Martin *et al.*, 2012) de *Phytophthora*. Una base de datos de ITS y de los loci *cox I* y *II* también está disponible en *Phytophthora* ID (Grünwald *et al.*, 2011) y los datos de las secuencias para varios loci (ITS,  $\beta$ -tubulina, factor de elongación 1 $\alpha$  o *cox I*) se pueden encontrar en Q-Bank ([www.q-bank.eu](http://www.q-bank.eu)).

#### **1.7. Análisis poblacional de *P. capsici***

Una población es un grupo de individuos que comparte un pool genético. Para *Phytophthora*, las poblaciones con frecuencia contienen una amplia proporción de aislamientos que derivan de la división mitótica, los que se conocen como líneas clonales. Dependiendo de las especies y de la situación, estas líneas clonales pueden estar distribuidas en forma local, en determinadas lesiones, en unas pocas plantas, en un campo o dispersadas a nivel regional o nacional. La reproducción clonal domina en las poblaciones de *P. capsici* obtenidas de pimiento tanto en Perú como en la región centro – oeste de Argentina (Provincias de Tucumán, San Juan y Mendoza), por lo que en estas zonas la recombinación sexual jugaría un rol muy limitado para la ocurrencia de nuevos genotipos (Hurtado-González *et al.*, 2008; Gobena *et al.*, 2012). Estos resultados contrastan con los de otras regiones, donde ambos tipos de apareamiento están presentes en diferentes proporciones y las poblaciones tienen altos niveles de diversidad génica y genotípica, presumiblemente como resultado de la reproducción sexual (Meitz *et al.*, 2010; Lamour *et al.*, 2012).

Un estudio poblacional puede ilustrar cómo las poblaciones de un patógeno sobreviven y se dispersan, y por lo tanto, puede revelar nuevas maneras de limitar la enfermedad, siempre y cuando estén disponibles las herramientas para realizarlo y la estrategia de muestreo sea la apropiada (Lamour, 2013).

Antes del advenimiento de las herramientas moleculares, varias características fenotípicas y fisiológicas fueron utilizadas para caracterizar la población de un patógeno; estas son: (1) la morfología de los zoosporangios, (2) la especificidad con los hospedantes, (3) la resistencia a fungicidas y (4) los tipos de apareamiento presentes. Estos caracteres, a pesar de su variabilidad dentro de un solo aislamiento, cuando se usan en conjunto con marcadores moleculares apropiados, son muy útiles para ilustrar la diversidad poblacional (Lamour *et al.*, 2012).

La estructura poblacional de un patógeno se puede conocer a través la cantidad y la distribución de la variación genética dentro y entre poblaciones de aislamientos. Este concepto, que se conoce como estructura genética, está determinado por factores que influyen la evolución poblacional, como la mutación, la deriva genética, el flujo genético, el sistema de reproducción y de selección.

En el caso de *P. capsici*, la estructura poblacional ha sido bien estudiada en algunos países donde este patógeno causa pérdidas significativas (Lamour & Hausbeck, 2001; Luz *et al.*, 2003; Tian & Babadoost, 2005; French-Monar *et al.*, 2006; Silvar *et al.*, 2006 & Wang *et al.*, 2009).

Se han empleado numerosas técnicas para el estudio de la biología poblacional y la diversidad de *P. capsici* y otras especies del género. Estas incluyen: RFLP, RAPD, AFLP, SSR, SNP y análisis de haplotipos mitocondriales (Martin *et al.*, 2012). Estudios que incluyeron muestras de *P. capsici* de todo el mundo han mostrado que este patógeno presenta una estructura genética moderada por el hospedante, origen geográfico y sensibilidad al metalaxil (Quesada-Ocampo *et al.*, 2011).

Las especies que han colonizado una región recientemente, con frecuencia carecen de diversidad genética, como resultado del cuello de botella que se produce en la población al momento de la colonización (Nei, 1978); esto es por causa de la presión de selección que experimenta el patógeno en el ambiente para sobrevivir y dispersarse. Mientras que las poblaciones antiguas, como el caso de *P. infestans* en México (reconocida como la fuente de migraciones recientes) son sexuales y esta región representa el centro de origen para este patógeno (Grünwald & Flier, 2005).

La definición de la estructura genética de una población es el primer paso lógico en estudios de genética poblacional dado que la estructura genética de una

población refleja su historia evolutiva y su potencial para evolucionar: aspectos importantes para la formulación de estrategias de manejo de la enfermedad (Roy & Grünwald, 2014).

## **I.8. El patógeno**

### **I.8.1. Aspectos biológicos de *P. capsici***

*P. capsici*, como todas las especies de *Phytophthora* heterotálicas, requiere la presencia de los dos tipos de apareamiento para reproducirse en forma sexual y generar las oosporas como resultado del contacto gametangial (Erwin & Ribeiro, 1996). Los gametangios son producidos por los aislamientos parentales una vez que se inicia el estadio sexual. La reproducción sexual se desencadena por la producción de hormonas de estimulación; en el caso de las especies heterotálicas, un tipo de apareamiento las produce y las recibe el opuesto. A continuación se inicia el desarrollo de los gametangios femenino y masculino (Ko, 2007).

Por su parte, las especies homotálicas tienen la capacidad de producir y recibir estas hormonas en un mismo aislamiento, un innovador modo de reproducción sexual en el mundo biológico, que las establece en organismos más evolucionados que las heterotálicas. Esta evolución dentro del género se observa en *Phytophthora* Database, donde la mayoría de las especies publicadas son homotálicas (Kroon *et al.*, 2012).

La presencia conjunta de los dos tipos de apareamiento en condiciones naturales es una evidencia de la reproducción sexual (Rodríguez *et al.*, 2004; Andersson, 2007). En este aspecto, *P. capsici* es la única especie heterotática del género que ha mostrado completar regularmente este estadio (Hausbeck & Lamour, 2004). Cuando ambos tipos de apareamiento se encuentran presentes, pueden ser aislados de tejidos de plantas de pimiento y de zapallo enfermas, pero en general ocurren individualmente, y rara vez juntos en una planta. (Erwin & Ribeiro, 1996).

A diferencia de otras especies de *Phytophthora* heterotálicas, tales como *P. ramorum*, *P. cinnamomi* y *P. nicotianae*, *P. capsici* raramente produce clamidosporas por lo que las oosporas, cuando se producen, son las únicas estructuras de

supervivencia y se cree que son la fuente del inóculo inicial en el campo, en climas templados donde ambos tipos de apareamiento se encuentran presentes (Erwin & Ribeiro, 1996). Las oosporas probablemente se forman después de que los restos de cosecha permanecen varios meses en el campo (Hausbeck & Lamour, 2004). En las condiciones de cultivo esto implica que los restos son esparcidos y enterrados por el laboreo del suelo, por lo que difícilmente puedan ser recuperados.

Cuando no se produce el ciclo sexual, este patógeno requiere de la presencia del hospedante (Lamour *et al.*, 2012). La infección de los hospedantes es producida por una hifa infectiva. La misma puede originarse a partir de una oospora, por la germinación directa de un zoosporangio o de un quiste que se formó a partir de una zoospora. En el caso de *P. capsici*, se ha demostrado que la penetración en los tejidos del hospedante ocurre a través de los estomas y también en forma directa, mediante la ruptura de la epidermis del hospedante. El patógeno produce enzimas de maceración extracelulares, las que probablemente juegan un rol importante en ese proceso, así como en la colonización del tejido (Hausbeck & Lamour, 2004). El mismo, finalmente colapsa y esporula sobre la lesión. Bajo condiciones óptimas (25 a 30 °C y alta humedad relativa) el tiempo requerido para la manifestación de la enfermedad es de 2 a 3 días (Lamour *et al.*, 2012). Durante este período, la infección ocurre en dos etapas sucesivas diferentes; una inicial en la que las células parecen no ser afectadas (biotrófica) y una posterior en la que las células mueren por colapso (necrotrófica). Por tales características *P. capsici* es considerado un patógeno hemibiótrofo. Este comportamiento puede ocasionar que se cosechen frutos con infecciones latentes, manifestándose los síntomas en el período de almacenamiento y comercialización. Esto origina descartes que resultan en grandes pérdidas económicas (Lamour *et al.*, 2012).

Los zoosporangios maduros pueden desprenderse y ser movilizados en forma vertical por el golpeteo de las gotas de agua (lluvia o riego por aspersión) u horizontal, cuando son arrastrados por el agua de escorrentía. Según las condiciones ambientales los zoosporangios pueden germinar en forma directa o indirecta. En este último caso su citoplasma se cliva, dando origen a 20 - 40 zoosporas (Hickman, 1970; Erwin & Ribeiro, 1996). Las zoosporas nadan hacia las plantas atraídas por quimiotaxis y se enquistan (Erwin & Ribeiro, 1996). Como consecuencia de estos modos de dispersión del patógeno, las plantas presentan con

frecuencia infecciones múltiples, las que en el caso de *P. capsici* pueden corresponder a aislamientos de grupos de apareamiento opuestos. Si esto ocurre, la posibilidad de formación de oosporas se incrementa notablemente (Hausbeck & Lamour, 2004), aunque es raro que estén presentes ambos tipos de apareamiento en una misma planta (Erwin & Ribeiro, 1996). Es por esto que, dependiendo de los casos, el inóculo primario de *P. capsici* puede estar constituido por el micelio que se encuentra colonizando restos de cultivos previos, como también por oosporas, con la ventaja evolutiva y epidemiológica que estas estructuras le confieren al patógeno (Hausbeck & Lamour, 2004).

### **1.8.2. Aspectos epidemiológicos de *P. capsici***

El conocimiento de la dinámica de las enfermedades en las poblaciones permite identificar las estrategias de manejo adecuadas (Fry, 1982). La enfermedad resulta de la interacción del patógeno con un hospedante susceptible en un medio ambiente favorable a través del tiempo. En cuanto al patógeno las características que determinan su potencial son su habilidad para producir enfermedad y su tamaño poblacional; con respecto al hospedante, su susceptibilidad y del mismo modo su tamaño poblacional y en cuanto al ambiente, los factores químicos, físicos y biológicos que favorecen el desarrollo de la enfermedad.

El tiempo requerido para el crecimiento, el desarrollo del patógeno y el modo de dispersión afectan directamente la dinámica de la patología, pero la estrategia reproductiva de los patógenos es el factor cuyo efecto tiene especial importancia en la epidemiología (Fry, 1982).

La reproducción sexual le otorga a *Phytophthora* la capacidad para sobrevivir en el suelo como oosporas y además incrementar la variabilidad genética por recombinación (Andersson, 2007). A diferencia de ésta, la reproducción asexual, que solo puede actuar sobre la composición genética total de un organismo, contribuye con el aumento del tamaño poblacional (Erwin & Ribeiro, 1996). Por lo tanto, el potencial evolutivo de una especie se verá mejorado ampliamente en los casos donde el ciclo de vida incluya la recombinación sexual (nuevos genotipos) y la rápida

propagación clonal (Andersson, 2007). Estas características incrementan el potencial epidemiológico de cualquier patógeno (Rodríguez *et al.*, 2004).

Lamour & Hausbeck (2000) estudiaron la resistencia de *P. capsici* al metalaxil, uno de los principios activos más utilizados para el control de *Phytophthora* y encontraron que estos patógenos son completamente resistentes cuando tienen dos copias del gen correspondiente. Es por esto, que los aislamientos con resistencia al metalaxil solo se originan por reproducción sexual. De este modo se destaca la importancia de conocer la proporción de los tipos de apareamiento en una zona para establecer las alternativas de manejo de la enfermedad. Cuando los tipos de apareamiento, A1 y A2, se encuentran en igual proporción, es esperable que la práctica de control químico con metalaxil sea insuficiente, máxime si se presentan las condiciones de temperatura y humedad óptimas para el desarrollo de la enfermedad (Andersson, 2007).

Ya en la década del 80 se reportó en Estados Unidos la presencia conjunta de los dos tipos de apareamiento de *P. capsici* en campos de producción de Nueva Jersey, (Papavizas *et al.*, 1981). Uchida (1984), en un estudio sobre la oosporogenesis y la formación de clamidosporas de *P. capsici*, encontró que de un total de 30 aislamientos provenientes de hospedantes de Solanáceas y otras familias, cuatro pertenecieron al tipo A1, siete al A2 y 19 fueron infértiles. Lamour & Hausbeck (2000), en el estado de Michigan, obtuvieron más de 500 aislamientos de *P. capsici* de hospedantes de Cucurbitáceas y de pimiento. En la mitad de los casos, aproximadamente, encontraron que la proporción de tipos de apareamiento fue de 1:1. Posteriormente, estos mismos autores obtuvieron tendencias similares a partir de muestras de tejido vegetal provenientes de campos de producción de pimiento y de Cucurbitáceas en Nueva York, Connecticut, Pensilvania, Ohio y Carolina del Norte (Hausbeck & Lamour, 2004). Por su parte, Gevens *et al.*, (2006) realizaron monitoreos de aguas estancadas en sitios con un historial de presencia de *P. capsici* y en sitios adyacentes a lugares con plantas enfermas. El estudio se realizó en Michigan, durante cuatro estaciones de crecimiento, donde se determinó una razón próxima a 1:1 para la mayoría de los sitios de muestreo. En los casos donde la razón de tipos de apareamiento se alejó de esta proporción, se encontró que el tipo A1 ocurrió con mayor frecuencia.

Rodríguez Moreno *et al.* (2004), en un estudio realizado en lotes de producción de pimiento de la región centro-norte de México, determinaron una distribución aleatoria de aislamientos de *P. capsici* con los dos tipos presentes en las muestras de tejido vegetal de todos los sitios de muestreo. En el Noroeste de España, Silvar *et al.* (2006), en una muestra de 16 aislamientos encontraron solamente el tipo A1.

Recientemente Meitz *et al.* (2010), en una población compuesta por 78 aislamientos de *P. capsici* provenientes de distintas partes de Sudáfrica encontraron que la frecuencia de tipos de apareamiento no se desvió significativamente de la razón 1:1.

En América del Sur los estudios realizados parecerían indicar, a diferencia de los casos descritos, la presencia de un único tipo de apareamiento en esta región. Hurtado-González *et al.* (2008), estudiaron 227 aislamientos para determinar los mecanismos por los cuales *P. capsici* sobrevive y se dispersa en Coastal, Perú y encontraron que todos pertenecieron al tipo A2. Por su parte Gobena *et al.* (2012), en Argentina analizaron la diversidad genética de aislamientos de *P. capsici* obtenidos de pimiento en la zona centro – oeste del país y encontraron que en una muestra de 41 aislamientos, todos pertenecieron al tipo A1.

Sin embargo, aún cuando se encuentren presentes ambos tipos de apareamiento, la reproducción sexual de *P. capsici* tendrá lugar siempre y cuando las condiciones de temperatura y humedad sean las adecuadas, y se produzcan durante un período de tiempo suficiente (Palazón & Palazón, 1989). Pero si bien la reproducción sexual de *P. capsici* puede ser limitada en el tiempo y en el espacio, la capacidad que posee para reproducirse en forma asexual es explosiva (citado por MacKenzie *et al.* 1983 en Erwin & Ribeiro, 1996), lo que contribuye a su potencial patogénico (Lamour *et al.*, 2012).

En contraste con las enfermedades multicíclicas, las enfermedades monocíclicas dependen casi exclusivamente de la cantidad de inóculo inicial para que ocurra una epidemia grave. La naturaleza policíclica de una epidemia afecta directamente el tipo de medida de control seleccionado (Fry, 1982) y permite explicar porqué algunos tratamientos fracasan.

De este modo, *P. capsici* representa el peor escenario para los productores dado que posee un amplio rango de hospedantes entre las especies hortícolas y tiene un ciclo asexual con una alta tasa epidemiológica. En ciertas regiones produce esporas sexuales, las que sobreviven por largos períodos y le confieren a las poblaciones una amplia diversidad genética. Estas características, conjuntamente con la facilidad de *P. capsici* para hacerla crecer, aparear y manipular en el laboratorio hacen de este patógeno un modelo robusto para investigaciones, particularmente las relacionadas con la reproducción sexual, el rango de hospedantes y la virulencia (Lamour *et al.*, 2012).

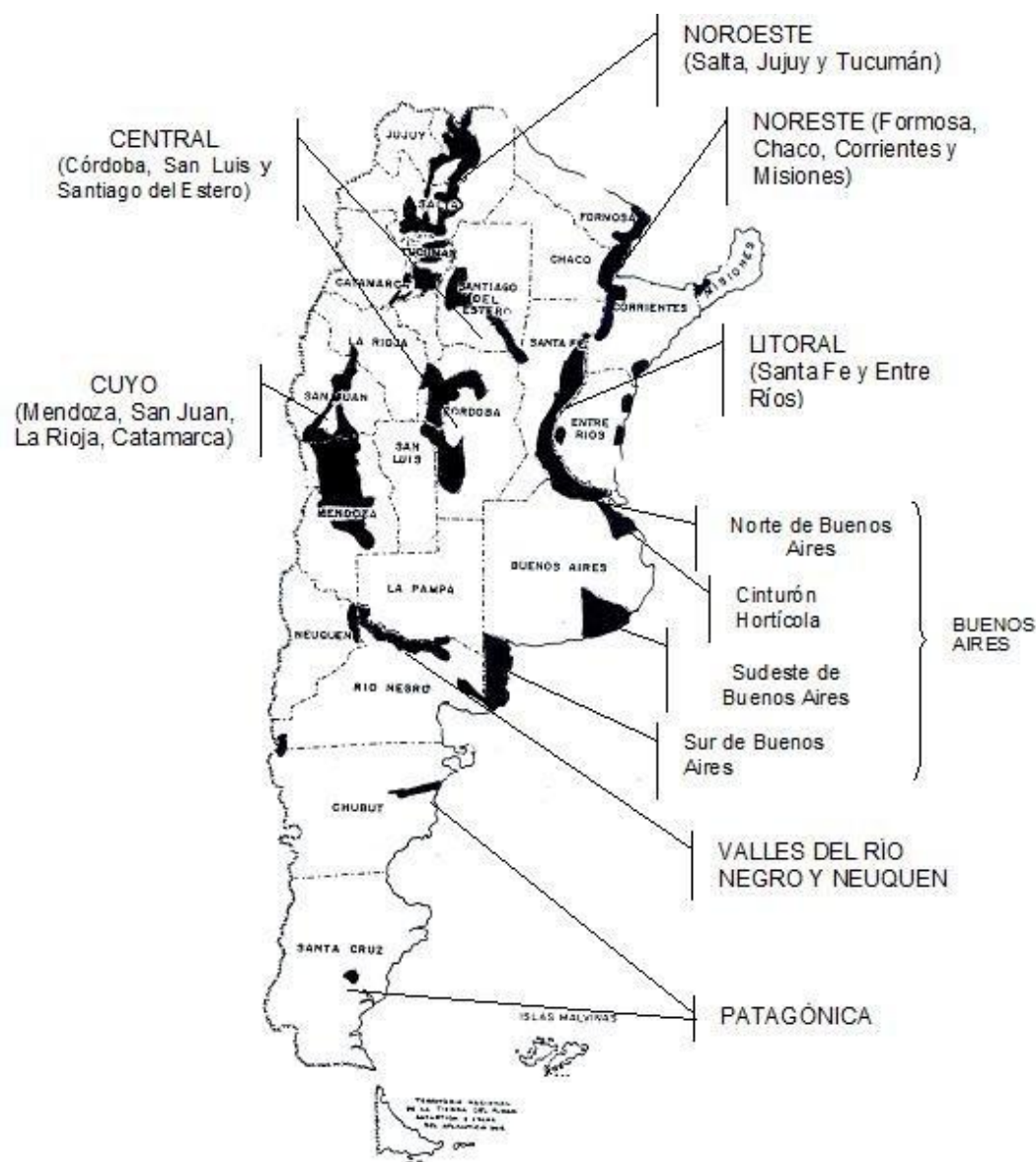
## **I.9. Los hospedantes**

### **I.9.1. Las regiones de producción hortícola y los hospedantes**

Las hortalizas componen una parte importante en la cadena productiva de alimentos a nivel mundial, desde el punto de vista económico, social y nutricional. En Argentina, en 2011, la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) estimó que la producción total fue de 10.500.000 toneladas, incluidos los cultivos de Solanáceas (papa, tomate, pimiento, berenjena), Cucurbitáceas (zapallito, zapallo, sandía, melón), Crucíferas (repollo, brócoli, coliflor), Fabáceas (poroto, chaucha), Convolvuláceas (batata), Umbelíferas (zanahoria), Liliáceas (cebolla, ajo), Chenopodiáceas (acelga), Compuestas (lechuga) y Gramíneas (maíz).

Dada la diversidad de climas que tiene la Argentina, la producción hortícola se extiende a lo largo del año entre los 22° y los 46° de L.S. (Fig. 3).





**Fig. 3.** Distribución geográfica del cultivo de especies hortícolas en Argentina  
Fuente: Informe del Mercado Central, 2012.

Los factores que determinan la producción regional son: climáticos, edáficos y socioeconómicos. Entre los climáticos, la temperatura es el factor más importante ya que limita el cultivo de algunas especies. Éste, en conjunto con la humedad del ambiente, determina la aparición de enfermedades. El fotoperíodo regula el crecimiento y desarrollo de algunas plantas sensibles a la duración del día y por lo tanto determina la estacionalidad de estos cultivos. En cuanto a las características edáficas, la composición química y física del suelo, define la fertilidad actual y potencial, la estructura del suelo y la calidad del agua para riego, que pueden ser

limitantes para el establecimiento de algunos cultivos. Los factores socioeconómicos hacen que la concentración de la producción se ubique en torno a los grandes centros urbanos, con la formación de “Cinturones verdes”. Éstos son áreas productivas ocupadas por quintas o huertas familiares y comerciales, donde se producen hortalizas para abastecer mayormente a la población urbana. Fueron la primera manifestación de la horticultura en la Argentina a fines del siglo XIX, desarrollada, principalmente, por inmigrantes europeos. Actualmente se destaca en su desarrollo la contribución de familias trabajadoras del NOA y de países limítrofes.

A partir de la década del 90, con la incorporación de tecnologías, como el uso de variedades e híbridos, el empleo de fertilizantes de acción específica, la sistematización del riego y la difusión del cultivo bajo cubierta, se produjo un incremento en los rendimientos de los cultivos hortícolas. Sin embargo el grado de avance fue diferente en cada zona de producción (Benencia *et al.*, 2009).

Las familias Solanáceas y Cucurbitáceas son consideradas las familias botánicas con mayor número de hospedantes hortícolas de importancia económica (Erwin & Ribeiro, 1996). Los que se han difundido principalmente en tres regiones productoras: **Buenos Aires** (cinturón hortícola de Buenos Aires), **Cuyo** (Mendoza) y **Noreste** (Corrientes) (Mercado Central de Buenos Aires, 2012). Esto se debe a su versatilidad para el consumo en fresco o en conserva y su adaptabilidad a distintos climas y suelos.

Algunas características agroclimáticas que permiten diferenciar estos tres sitios de producción hortícola son:

El cinturón hortícola de Buenos Aires que rodea al conglomerado urbano integrado por C.A.B.A. y ciudades próximas, se extiende desde Escobar hasta la Plata. El clima es templado sin estación seca, con veranos calurosos e inviernos benignos. El período libre de heladas es de 220 días (desde el 20 de octubre hasta el 10 de mayo). Las precipitaciones rondan los 900 a 1000 mm anuales. Presenta suelos argiudoles típicos y argiudoles vérticos que poseen un horizonte A rico en materia orgánica y un B textural, la textura es franco limosa (Ferratto *et al.*, 2010).

En la región hortícola de la provincia de Mendoza el clima es desértico. Las precipitaciones son inferiores al límite de sequía, entre 100 y 300 mm anuales. En este caso, el clima está determinado por la altitud sobre el nivel del mar y la latitud

geográfica, la lejanía al océano Atlántico y la presencia de la Cordillera de Los Andes, que actúa como barrera frente a los vientos húmedos provenientes del océano Pacífico. El período libre de heladas es de 180 a 240 días, dependiendo de la zona. Los suelos son de textura gruesa y de pobre contenido de materia orgánica (Ferratto *et al.*, 2010).

En Corrientes la horticultura se ha desarrollado especialmente en la zona de Bella Vista. El clima es subtropical húmedo, con precipitaciones que rondan los 1000 mm anuales y un período libre de heladas que solo abarca junio y julio. Los suelos que la caracterizan son Entisoles, Molisoles, Alfisoles Histosoles, Ultisoles, Vertisoles e Inceptisoles (Ferratto *et al.*, 2010).

La familia **Solanáceas** está integrada por plantas herbáceas o leñosas. Comprende al menos 98 géneros que están distribuidos en todo el mundo. La mayor diversidad se presenta en América del Sur y América Central (Olmstead & Bohs, 2007). Incluye a especies alimenticias tan importantes como la papa (*Solanum tuberosum*), el tomate (*Solanum lycopersicum*), la berenjena (*Solanum melongena*) y los ajíes o pimientos (*Capsicum annuum*).

La familia **Cucurbitáceas** comprende plantas normalmente herbáceas, rastreras o trepadoras. Comprende aproximadamente 95 géneros distribuidos en regiones tropicales y subtropicales, con mayor diversidad en el Sudeste Asiático, Oeste de África, Madagascar y México (Schaefer & Renner, 2011). Incluye a algunos de los cultivos vegetales más importantes del mundo como: los zapallos y los zapallitos (*Cucurbita* spp.), el melón (*Cucumis melo*), el pepino (*Cucumis sativus*) y la sandía (*Citrullus lanatus*).

Varias especies de estas familias son anuales, bianuales o perennes, pero los cultivos se conducen como anuales y durante la estación estival o bajo cubierta, ampliando de este modo su período de producción. Esto se debe a la susceptibilidad de las especies a las heladas y a la dependencia del fotoperíodo.

Dentro de las Solanáceas, las especies de interés para el presente estudio, la berenjena, el pimiento, son plantas erectas y ramificadas, mientras que el tomate, si bien es erecto, es conducido por tutores, con un único tallo, por desbrotado.

Entre las Cucurbitáceas, las especies de interés son el zapallito de tronco (*Cucurbita máxima* spp.) y el zucchini (*Cucurbita pepo* var. *Medullosa*). El tallo del primero forma una roseta, mientras que el segundo desarrolla guías rastreras.

En la mayoría de los casos, estos cultivos se inician con el transplante de plantines producidos en viveros. Se ubican en camellones separados 0,70 m - 1,5 m y con una distancia entre plantas de 0,20 m - 0,60 m, dependiendo de la especie. En el caso de las Solanáceas existen variedades de cultivo temprano y tardío. La ventana de producción es limitada por la presencia de heladas y se amplía cuando la producción se realiza bajo cubierta, una práctica que se realiza con una tendencia positiva año a año. El control de malezas es un problema recurrente en la zona y su importancia radica en la función que cumplen como hospedantes alternativos de los patógenos biótros y hemibiótros, como es el caso de *P. capsici*.

Se han identificado algunas fuentes de resistencia completa a *P. capsici* en la familia Solanáceas, en pimiento y en tomate, pero en el caso de las Cucurbitáceas la resistencia no es común entre las especies (Granke *et al.*, 2012). *P. capsici* junto con *Pseudoperonospora cubensis* (oídio) constituyen las amenazas más severas para su cultivo (Burkhardt & Day, 2013).

#### **1.9.2. La expresión de los síntomas de las enfermedades causadas por *P. capsici***

*P. capsici* infecta a un amplio rango de hospedantes de Solanáceas y Cucurbitáceas en todo el mundo (Crossan *et al.*, 1954; Satour & Butler, 1967; Hwang & Kim, 1995; Erwin & Ribeiro, 1996; Hausbeck & Lamour, 2004). Esta especie, como otras del género, produce una amplia variedad de síntomas que varían de acuerdo al hospedante, la parte de la planta infectada y las condiciones del ambiente. Su caracterización precisa permite alertar a los productores sobre la existencia del problema y a los investigadores diseñar los programas de mejoramiento necesarios para los cultivos (Sanogo, 2007). Los síntomas producidos por *Phytophthora* spp., en pimiento, en tomate, en berenjena y en zapallos, que fueron descritos en Erwin & Ribeiro (1996) y en [www.Phytophthoradb.org](http://www.Phytophthoradb.org), junto con algunos reportes

relevantes de las enfermedades causadas por *P. capsici* en todo el mundo, se describen a continuación.

En el cultivo de **pimiento**, *P. capsici* causa la enfermedad conocida como “marchitez”, “tristeza” o “podredumbre del cuello y de la base del tallo”, siendo la más estudiada a nivel mundial para este patógeno. De acuerdo con González-Chavira *et al.*, (2002), bajo condiciones favorables, puede producir pérdidas económicas devastadoras afectando hasta un 100% de la superficie cultivada. Ristaino *et al.*, (1993) estudiaron la expresión de los síntomas en plantas jóvenes y determinaron que la infección de las raíces fue seguida por la de las coronas, aunque las plantas con frecuencia se marchitaran aún antes de evidenciar ese último síntoma.

En plantas adultas, son susceptibles todos los órganos. En el caso del tallo, la infección puede ocurrir a cualquier altura, aunque es más común al nivel del suelo. Con frecuencia se observan plantas en producción muertas, esto se debe a lesiones en tallos o raíces. Las mismas comienzan como manchas castaño oscuro a negro, adquieren una consistencia aguanosa y producen estrangulamiento y finalmente la muerte de la planta.

En hojas, el síntoma comienza como pequeñas manchas de forma irregular a redonda y de consistencia aguanosa, las que pueden alcanzar a los brotes emergentes y producir su marchitamiento.

Los frutos del pimiento pueden ser infectados a través del pedúnculo. El síntoma es una podredumbre que aparece como áreas verde oscuras de consistencia aguanosa, que luego son cubiertas por un moho de aspecto grasiento, blanco a parduzco. Con el tiempo los frutos enfermos se tornan secos, arrugados, de color castaño y no se desprenden del tallo. En algunas regiones, como por ejemplo en Michigan, los frutos son raramente afectados (Ristaino & Johnston, 1999).

En el **tomate**, *P. capsici* también afecta a todos los órganos. Las plantas jóvenes con frecuencia se marchitan, resultando más susceptibles durante las primeras cuatro semanas después del transplante en el campo. Esto se debe a que las coronas son colonizadas y por esto la planta se puede marchitar y volcar. Las raíces pueden exhibir una podredumbre limitada; en estos casos las plantas permanecen relativamente asintomáticas (Hausbeck & Lamour, 2004).

El síntoma más común es la podredumbre de frutos, los que pueden ser infectados a cualquier edad. Estos órganos son más afectados cuando están en contacto con el suelo. Las lesiones comienzan como manchas oscuras y aguanosas. Las mismas aumentan su tamaño rápidamente y cubren 50 % o más de la superficie de la fruta; en esta etapa pueden presentar círculos concéntricos, con distintas tonalidades de castaño. A través del tiempo y bajo condiciones húmedas las lesiones pueden ser cubiertas por un moho blanco.

La planta entera de **berenjena** es susceptible a la enfermedad, pero la podredumbre de frutos es el síntoma más frecuente. Este comienza como un área circular, color castaño y puede ocurrir en cualquier estado de madurez del órgano. Las podredumbres del tallo tienen menor incidencia y las podredumbres de cuello y de raíces son poco importantes (Gevens *et al.*, 2008; Hausbeck, 2012).

Las especies de la familia **Cucurbitáceas** son altamente susceptibles al marchitamiento foliar y a la podredumbre de *Phytophthora*, especialmente *P. capsici*. Los síntomas tempranos incluyen lesiones en hojas de forma irregular, aguanosas, que se expanden rápidamente. La infección de las coronas produce un rápido marchitamiento y posterior muerte de las plantas. En los frutos aparecen áreas hundidas, oscuras y aguanosas, las que son rápidamente cubiertas por moho. *P. capsici* puede infectar a los frutos en cualquier estado de desarrollo, inclusive durante el transporte y el almacenamiento (Zitter *et al.*, 2004).

En el campo, la infección generalmente aparece primero en las áreas más bajas donde el suelo permanece húmedo por mayor tiempo. Bajo condiciones de clima templado, *P. capsici* puede devastar plantaciones enteras de zapallos en el término de pocos días (Babadoost & Zitter, 2009).

#### I.10. El ambiente

La enfermedad ocurre teóricamente cuando un patógeno virulento y un hospedante susceptible se ponen en contacto, en un medio ambiente favorable,

durante un período de tiempo; lo que se denomina triángulo de la enfermedad. Por ello, es necesario conocer el ambiente donde se desarrolla la enfermedad para poder discriminar entre diferentes situaciones y caracterizar mejor la sintomatología asociada.

#### **I.10.1. Factores ambientales predisponentes para el desarrollo de la enfermedad**

Los factores ambientales que condicionan la iniciación y el desarrollo de las enfermedades infecciosas de las plantas son la temperatura y la humedad presente en la superficie de la planta (Agrios, 1997). Por lo tanto, su predisposición a la enfermedad es causada por factores ambientales (no genéticos) que las afectan previos a la infección, de tal modo que incrementan la susceptibilidad a la enfermedad (Campbell & Madden, 1990; Erwin & Ribeiro, 1996).

Dick (1992) abordó el estudio de los patrones fenológicos y su efecto sobre las poblaciones de hongos zoospóricos e indicó que el agua y la temperatura son los factores climáticos principales. Las condiciones ambientales tales como temperatura y humedad relativa influyen en el desarrollo de enfermedades producidas por *Phytophthora* spp. (Duniway, 1983). Por su parte, Granke & Hausbeck (2010) a partir de un estudio para determinar el efecto de la temperatura, la humedad y las heridas en el desarrollo de la podredumbre de frutos de pepino causada por *Phytophthora*, encontraron que *P. capsici* es capaz de infectar frutos de pepino sobre un amplio rango de temperaturas y condiciones de humedad relativa. Sin embargo, este estudio sugiere que a bajas temperaturas ( $\leq 12^{\circ}\text{C}$ ) solo puede ocurrir un limitado desarrollo de la enfermedad.

Las enfermedades causadas por *P. capsici* suelen iniciarse en las áreas bajas del terreno donde el agua se acumula. Por esto, los productores frecuentemente asumen que el retraso en el crecimiento o la muerte de las plantas en estas áreas debe a la saturación por agua de las raíces, cuando en realidad este patógeno es muchas veces la causa (com. pers. González, B.).

Aunque se asume que la lluvia fue la causa de los peores brotes de enfermedad causados por *P. capsici* en Florida, Estados Unidos, la incidencia de la enfermedad se incrementó dramáticamente donde factores adicionales podrían haber sido de importancia (Ploetz *et al.*, 2002). Por otro lado, el viento, agente que parece jugar un papel importante en la dispersión de *Phytophthora infestans* y *P. phaseoli*, no parece tener influencia en la dispersión de *P. capsici* (Palazón & Palazón, 1989).

Múltiples ciclos de infección y de producción de zoosporas le permiten a *P. capsici* ser dispersada rápidamente en el campo cuando se presentan condiciones de abundante humedad y temperaturas cálidas (Hausbeck & Lamour, 2004). Esto se debe a que el rango de temperatura óptima de crecimiento para *P. capsici* oscila entre 24°C y 28°C (Erwin & Ribeiro, 1996). La enfermedad se potencia cuando el exceso de agua en el suelo incrementa la susceptibilidad de las plantas, como consecuencia de la asfixia radicular y el incremento de la salinidad (Palazón & Palazón, 1989).

Se han conducido muchos estudios basados en la predisposición causada por factores ambientales como el efecto de la sequía, la inundación previa a la inoculación y la salinidad del suelo (Duniway, 1983; Erwin & Ribeiro, 1996). Un estrés hídrico en plantas de tomate de 3 a 4 semanas de edad antes o después de la inoculación de las raíces con zoosporas de *P. nicotianae* incrementó la severidad de los síntomas de podredumbre de raíces, comparado con plantas no estresadas (Erwin & Ribeiro, 1996). Un exceso de agua en el suelo, incorporada durante tres días antes de la inoculación con zoosporas, predispuso a las plantas de alfalfa a la podredumbre de raíces causada por *P. medicaginis* (Kuan & Erwin, 1980; Erwin & Ribeiro, 1996). La salinidad incrementó la susceptibilidad del crisantemo a la podredumbre de raíces causada por *P. cryptogea* (Erwin & Ribeiro, 1996). Estos factores predisponentes deben ser diferenciados del efecto de los factores ambientales sobre el incremento de la población del patógeno (Erwin & Ribeiro, 1996). *Phytophthora*, como otros géneros de la familia Phytiaceae, tiene una rápida capacidad reproductiva y un corto tiempo de regeneración bajo condiciones ambientales favorables (Erwin & Ribeiro, 1996).

A su vez, la respuesta de las distintas especies de *Phytophthora* a las condiciones ambientales, determina la distribución geográfica de sus poblaciones y



en consecuencia de las enfermedades que producen (Duniway, 1983). Por lo tanto de acuerdo con las temperaturas cardinales elevadas necesarias para el crecimiento y desarrollo de *P. capsici*, las enfermedades que causa son más prevalentes en ambientes subtropicales y tropicales. *P. nicotianae* y *P. cinnamomi* también proliferan bajo condiciones similares. Por su parte, *P. infestans* lo hace en regiones de clima templado húmedo pero tiene la capacidad de sobrevivir con temperaturas inferiores. *P. palmivora*, que posee algunas características comunes con *P. capsici*, se encuentra exclusivamente en regiones de clima tropical (Erwin & Ribeiro, 1996).

#### **I.11. Avances sobre las tecnologías en uso para el control de la enfermedad**

Para el control de la enfermedad, las principales prácticas de manejo incluyen el control cultural para evitar el incremento de inóculo (Ristaino *et al.*, 1992) y el uso de fungicidas. La clase fenilamida de fungicidas, que incluye al metalaxil (Ridomil®) ha sido ampliamente utilizada en las últimas décadas en la producción de pimiento y de Cucurbitáceas en todo el mundo (Erwin & Ribeiro, 1996). El uso intensivo de este fungicida ha inducido a una presión selectiva en los aislamientos de *Phytophthora* spp., tal es el caso de *P. infestans* en Europa, donde la selección ocurrió en el término de un año de la aplicación del fungicida (Goodwin, 1997).

La mayoría de las estrategias utilizadas para el control apuntan a limitar la acumulación de agua en el terreno, pero cuando se dan las condiciones de humedad y temperatura favorables para el desarrollo de la enfermedad, no hay una estrategia química o cultural suficiente para limitarla. Para esto, son útiles los pronósticos que se basan en las condiciones medioambientales previas para el desarrollo de la enfermedad.

Existe una serie de factores que es importante considerar para el desarrollo de pronósticos (Fry, 1982), estos son: (1) tener un conocimiento adecuado del medioambiente, del hospedante, y de su influencia en el patógeno y consecuentemente en el desarrollo de la enfermedad, (2) identificar la tecnología apropiada para la detección del patógeno y de la enfermedad y (3) tener un conocimiento adecuado del patógeno y de la dinámica de la enfermedad.

En este sentido, productores de papa del Noreste de Estados Unidos y Europa han introducido sistemas de pronóstico para los cultivos de papa con cierto grado de extensión (Erwin & Ribeiro, 1996). Estos tienen en cuenta a la temperatura, la precipitación y la humedad relativa registrada en una estación meteorológica cercana durante un período, previo a la aparición de la enfermedad.

También, mediante el uso de fotografías y/o sensores remotos, es posible la detección temprana de pequeños manchones de la enfermedad en grandes áreas de cultivo. Esto se debe a que las plantas enfermas poseen diferente respuesta (reflectancia) con respecto a las plantas sanas. El follaje sano es altamente reflectivo en el IRc a causa de la compleja asociación con el espacio intercelular. Este espacio, está ocupado principalmente por aire cuando la planta está sana, mientras que cuando la planta está enferma o senescente pasa a ser ocupado por las células del patógeno o por el agua, que actúan absorbiendo la radiación incidente y por lo tanto producen una disminución en la respuesta reflectiva del tejido (Madden *et al.*, 2007).

Por otro lado, el conocimiento de los mecanismos moleculares por los cuales el patógeno adquiere resistencia a ciertos fungicidas y de las variables ambientales predisponentes será de valor crítico para la producción, el mejoramiento y la investigación. Al presente, la resistencia a *P. capsici* ha sido solo identificada en unos pocos cultivos selectos. En el pimiento, la resistencia genética contra todos los aislamientos de *P. capsici* probados está solo disponible para el cultivar Criollo de Morelos-CM 334, que no es comercializable. Recientemente, Foster *et al.* (2013), evaluaron líneas genéticas de berenjena y de pimiento en cuanto a la resistencia y encontraron que la berenjena fue más resistente a la podredumbre de cuello y de raíces ocasionadas por *Phytophthora*, que los cultivares de pimiento. En el caso del tomate, un extenso paneo con cuatro aislamientos de *P. capsici* resultó en una línea genética aparentemente resistente a todos los aislamientos probados (Quesada-Ocampo & Hausbeck, 2010).

# **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

## I. HIPÓTESIS

- En la zona Noreste de la provincia de Buenos Aires, *P. capsici* está presente en los cultivos de zapallito, berenjena, pimiento y tomate.
- Los tipos de apareamiento A1 y A2 de *P. capsici*, se presentan en igual proporción (1:1), en las plantas colonizadas.
- En los tejidos vegetales colonizados por *P. capsici*, se forman oosporas bajo condiciones naturales.

## II. OBJETIVOS

### II.1. Objetivo general

Estudiar el comportamiento sexual de *P. capsici* en sustratos vegetales provenientes de cultivos hortícolas y caracterizar a *P. capsici* como patógeno de especies de Solanáceas y Cucurbitáceas presentes en la zona Noreste de la provincia de Buenos Aires.

### II.2. Objetivos específicos

- Analizar la persistencia de *Phytophthora* spp. en dos períodos de cultivo (2010 - 2011).
- Caracterizar los aislamientos obtenidos de especies de *Phytophthora* sobre la base de la morfología, el análisis molecular de las secuencias, la sensibilidad al metalaxil y su patogenicidad.
- Establecer la diversidad interespecífica de *Phytophthora*.
- Establecer la variabilidad intraespecífica de *P. capsici*.
- Analizar la patogenicidad y la virulencia de una población de aislamientos de *P. capsici*.
- Analizar la presencia de las oosporas en tejidos vegetales colonizados bajo condiciones naturales.



# **MATERIALES Y MÉTODOS**

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### III.1. Identificación de las unidades productivas con presencia de especies del género *Phytophthora*

La zona de estudio incluyó a las unidades de producción hortícola (quintas) de los partidos de Exaltación de La Cruz, Luján y General Rodríguez, entre las coordenadas: 34°19'S; 59°11'O y 34°41'S; 58°54'O. Esta zona se extendió a lo largo de una transecta Noroeste - Sudeste de aproximadamente 45 km de longitud, que se emplazó en el Noreste de la provincia de Buenos Aires (Fig. 4).

La ubicación geográfica de las quintas se estableció sobre la base de información solicitada a los municipios, en complemento con mapas rurales, cartas topográficas e imágenes satelitales y fueron georeferenciadas con equipo GPS (marca: Garmin eTrex Legend H®). En la zona, la mayoría de los cultivos se realizan a cielo abierto, por lo que se excluyó del muestreo a aquéllos que fueron realizados bajo cubierta.

Las quintas que la conformaron estuvieron compuestas por los cultivos de los hospedantes de interés: zapallito de tronco, berenjena, tomate y / o pimiento, realizados al aire libre, en lotes individualizados dentro de las mismas.

Las visitas se realizaron con una frecuencia semanal durante la estación de cultivo, que correspondió a los meses de octubre a abril, en 2010 y 2011.

En cada lote de cultivo se registró: la superficie, las variedades implantadas, los cultivos antecesores y el sistema de irrigación empleado.

Se trató de un estudio observacional, por lo tanto la estrategia de muestreo utilizada determinó la información que se originó. Para esto se siguieron los lineamientos que rigen el muestreo estratificado, considerando a los tres partidos como los estratos, con adjudicación proporcional según la cantidad de explotaciones hortícolas en cada uno de ellos, pero con aleatorización restringida a las localizaciones de las quintas y la posibilidad de acceso a las mismas.



**Fig. 4.** Ubicación geográfica de la zona de muestreo de *Phytophthora* spp.

Fuente: Digital Globe. 5/4/2015. Google Earth.

### III.2. Descripción de la zona de muestreo

La topografía y los suelos presentes en la zona de muestreo se establecieron en base a la consulta de los mapas de suelos correspondientes, a escala 1 / 50.000, del Instituto de Suelos del INTA Castelar ([www.inta.gov.ar/suelos](http://www.inta.gov.ar/suelos)). En estos mapas, los suelos son clasificados según las normas de *Soil Taxonomy* (Soil Survey Staff, 1999), que utiliza los siguientes criterios: el número y el nivel de desarrollo de los horizontes, sus propiedades químicas y físicas, y los regímenes de humedad y de temperatura imperantes.

Se obtuvieron los registros diarios de las precipitaciones y de las temperaturas máximas y mínimas, de 2010 y 2011, proporcionados por la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional de Luján (34° 35' 17" S y 59° 03' 46" O,

28 msnm). Ésta se ubica a una distancia aproximada de 5 a 25 km, respecto de los puntos de muestreo.

Se indagaron los aspectos socioeconómicos y productivos relevantes en cada uno de los tres partidos que integraron la zona de muestreo.

### **III.3. Muestreo de especies de *Phytophthora* en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas**

El muestreo se realizó de modo secuencial con una frecuencia semanal, siempre que la ocurrencia de precipitaciones de los días previos a las visitas no limitara el acceso a las quintas, con accesos de tierra, no consolidados. Se inició en octubre, con el transplante de los cultivos de interés y finalizó en abril, con la senescencia de los cultivos, producida por las primeras heladas. Durante este período, se tomaron muestras de las mismas localidades en múltiples momentos de la estación de cultivo y en dos años subsecuentes.

Para extraer las muestras se recorrieron los lotes en forma azarosa; éstas incluyeron: frutos, tallos, brotes y / o plantines, con presencia de tejido enfermo, de tal modo que se pudieran realizar los aislamientos de la zona de avance de las lesiones. Del mismo modo, se descartaron los frutos que estuvieron en contacto con el suelo para evitar contaminaciones secundarias y se tomaron secciones de los tallos y / o de los brotes con los síntomas, para evitar trasladar plantas enteras.

Los síntomas observados fueron atribuidos a *Phytophthora* spp. sobre la base de la literatura disponible en enfermedades de pimiento, tomate, berenjena y Cucurbitáceas (Pernezny *et al.*, 2003; Jones *et al.*, 1991; Gevens *et al.*, 2008; Zitter *et al.*, 2004; Erwin & Ribeiro, 1996).

En cada caso se tomaron entre tres y cinco muestras con lesiones típicas. En el laboratorio se seleccionaron tres muestras para su procesamiento posterior. Cada uno de estos materiales se colocó en una bolsa de papel rotulada. Cuando no fue posible procesar el material recolectado inmediatamente, éste fue almacenado en heladera.



Las variables consideradas en el muestreo fueron: la localidad en la que estuvo ubicado cada lote, el año, el productor, el hospedante y el órgano afectado. Éstas se analizaron mediante tablas de contingencia.

#### **III.4. Determinación de la prevalencia del tizón causado por *Phytophthora* spp., en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas (2010 – 2011).**

Los lotes de cultivo de Solanáceas y Cucurbitáceas muestreados, donde se constató la presencia de *Phytophthora* spp., y aquéllos con hospedantes con ausencia de la enfermedad constituyeron la base para establecer la prevalencia del patógeno, en los 2 años de muestreo. Para esto se registró el número total de lotes muestreados y el número de los lotes afectados por *Phytophthora* spp.

La prevalencia se estableció sobre el total de los lotes visitados, pertenecientes a los tres partidos (Luján, General Rodríguez y Exaltación de La Cruz) de la zona Noreste de Buenos Aires, durante el período: enero – abril de 2010 y de 2011. Se expresó como la proporción de lotes con presencia de la enfermedad, en relación al total, para cada año de muestreo.

#### **III.5. Identificación de los aislamientos de *Phytophthora***

##### **III.5.1. Obtención de aislamientos a partir del material vegetal**

En el laboratorio, el material vegetal muestreado (tallos, frutos, brotes y plantines), con síntomas presuntamente ocasionados por *Phytophthora* spp., fue lavado bajo chorro de agua y a continuación enjuagado con una solución detergente, durante 5 minutos. Este tratamiento se realizó para eliminar los restos de suelo adheridos a la superficie de las muestras. Inmediatamente se desinfectó en forma superficial mediante inmersión en una solución de lavandina al 1 %, durante 2 minutos. Se enjuagó con agua destilada estéril y se secó con papel absorbente.

Para la desinfección de las porciones de tallos se utilizó en algunos casos etanol al 70 %, por inmersión del material durante 30 segundos, con similares resultados.

Los aislamientos se realizaron bajo cámara de flujo laminar (CFL). Con un bisturí flameado se eliminó una porción superficial del tejido, de la zona de avance de la lesión; de este modo quedaron expuestos los tejidos internos necróticos. Se tomaron 4 porciones de aproximadamente 3 x 3 mm y se sembraron en placas de Petri de 9 cm de diámetro con agar manzana tomate (AMT). Este medio fue seleccionado en base a los resultados obtenidos en el Ítem III.5.2.

Las placas se incubaron en oscuridad durante 2 a 3 días, a 24 °C, hasta que el crecimiento de las colonias alcanzó de 2 a 3 cm de diámetro, evitando de este modo su superposición. Estas fueron condiciones estándar para el crecimiento futuro de las colonias.

Las colonias que presentaron un patrón característico para las especies del género *Phytophthora* (Erwin & Ribeiro, 1996) fueron marcadas. Luego, en cada placa se seleccionó, al azar, una de esas colonias, de la que se transfirieron 4 extremos hifales a una placa con AMT. Las mismas, se seleccionaron con un microscopio estereoscópico en la CFL y se las extrajo con una aguja hipodérmica. Se incubaron en las mismas condiciones que las anteriores.

### **III.5.2. Comparación de los medios de cultivo utilizados para los aislamientos de *Phytophthora***

Los medios selectivos para el aislamiento empleados con frecuencia, consisten en agar harina de maíz (AHM), agar jugo V8 (AV8) y agar papa dextrosado (APD), suplementados con una combinación de antibióticos, incluyendo: pimaricina, ampicilina, rifampicina, vancomicina, nistatina y los fungicidas pentaclorodinitrobenzoceno (PCNB) e hymexazol (Mitchell & Kannwischer-Mitchell, 1992; Erwin & Ribeiro, 1996).

Los medios selectivos disminuyen drásticamente el crecimiento de otros microorganismos, pero no garantizan el logro de aislamientos exitosos de *Phytophthora*; esto depende en gran medida, del material muestreado a partir del

cual se desean obtener los aislamientos, ya sean tejidos vegetales, suelo o agua (Martin *et al.*, 2012).

Se evaluó el crecimiento de *Phytophthora* spp. en medios de cultivo alternativos al AV8 (agar V8®). Éstos fueron el APD (agar papa dextrosada), el AHM (agar harina de maíz) y un medio nuevo generado en el laboratorio ante las limitaciones de importación del jugo V8®. El mismo, se denominó agar manzana tomate (AMT) (Com. pers.: González, B.). Para su elaboración se utilizaron manzanas y puré de tomate, más la adición de carbonato de calcio, agar y agua destilada. La elección de ambos vegetales se basó en que las manzanas son utilizadas como cebo para la mayoría de las especies de *Phytophthora* (Tsao, 1991) y en que el tomate es el principal componente del jugo V8.

#### **Composición:**

Manzanas.....	450 g
Puré de tomate comercial.....	250 ml
CaCO <sub>3</sub> .....	Cantidad necesaria para ajustar el pH a 7
Agar agar.....	30 g
Agua destilada.....	1 litro

Procedimiento: lavar las manzanas, y cortarlas en cuartos, descartando el cabo. Hervir en 1 litro de agua destilada durante 1 hora a fuego lento. Filtrar, agregar 250 ml de puré de tomate y agua destilada hasta completar 1 L, agregar 30 g de agar agar y revolver. Calentar hasta que se disuelva el agar, agitando constantemente. Adicionar CaCO<sub>3</sub> hasta ajustar el pH a 7. Esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 1 atm y 120 °C.

Para realizar la prueba de los medios de cultivo se utilizaron cuatro aislamientos: uno de *P. nicotianae* (TVILL F21) y tres de *P. capsici* (BAN Br2, ZVEL F1 y ZUCH Fgrande). Cada aislamiento se sembró en placas de Petri de 9 cm diám., con cada uno de los medios de cultivo y se incubó a 24 °C, en oscuridad durante una semana. El experimento se realizó por cuadruplicado. Se registró el diámetro de crecimiento de las colonias a los 2, 5 y 7 días, siendo el último día, el momento en el que la colonia de al menos un aislamiento completó el diámetro de la placa.

El crecimiento de los aislamientos en cada medio de cultivo al cabo del período fue comparado mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos factores, el aislamiento y el medio de cultivo, con el programa SPSS 2.1.

### **III.5.3. Identificación morfológica de los aislamientos**

Se realizó la siembra de una porción de 0,5 x 0,5 cm del margen de cada colonia en activo crecimiento, en placas de Petri de 9 cm diám. con AV8 y se incubó en oscuridad a 24 C durante 7 días.

Para cada aislamiento se determinó el patrón de crecimiento de las colonias, la presencia / ausencia de engrosamientos hifales y de clamidosporas.

Para evaluar la morfología de los zoosporangióforos y los zoosporangios, se transfirieron fragmentos de 5 x 5 mm del margen de las colonias en activo crecimiento a una placa de Petri estéril de 5 cm diám. Se inundó con agua corriente, de tal modo que los fragmentos quedaron cubiertos someramente. Se incubaron a temperatura ambiente y luz natural durante 2 días sobre la mesada del laboratorio, al lado de una ventana. Se constató la presencia de los zoosporangios con microscopio estereoscópico. La ramificación de los mismos se evaluó mediante la observación de las porciones con crecimiento, al microscopio óptico (20x).

Luego, se agitaron las placas para promover el desprendimiento de los zoosporangios y con una pipeta se succionó una parte de la solución resultante para realizar un preparado y observar con microscopio óptico (400x).

Se evaluó la morfología de los zoosporangios y de las papilas, así como las características cuantitativas: la longitud del pedicelo, el tamaño (la longitud y el diámetro), de 30 zoosporangios por aislamiento, seleccionados al azar.

En todos los casos, las observaciones microscópicas (400x) y las mediciones se realizaron con una cámara adaptada al ocular del microscopio óptico y el programa TSView.

Las estructuras sexuales se evaluaron en la zona de intersección del crecimiento del aislamiento de interés y el aislamiento correspondiente a la cepa de referencia, donde se produjeron los gametangios y las oosporas (Punto IV.5.4).

Las identificaciones se realizaron en base a la clave dicotómica de Stamps *et al.*, (1990) y las descripciones de Frezzi (1950) y Erwin & Ribeiro (1996).

#### **III.5.4. Conservación de los aislamientos**

Fue necesaria la conservación de los aislamientos para poder realizar a posteriori su identificación morfológica y molecular y / ó la realización de pruebas para evaluar su comportamiento como patógeno. La misma presentó algunos problemas, principalmente el de mantener los aislamientos vivos y sin contaminantes, por lo que inmediatamente se analizaron métodos alternativos para garantizar la viabilidad de los aislamientos.

Cada aislamiento se repicó a una placa de Petri de 9 cm diám. con AV8 en CFL y se incubó a 24°C, en oscuridad, hasta que el desarrollo de la colonia alcanzó 3 cm de diám., aproximadamente. A partir del desarrollo de estas colonias se realizó la conservación de los aislamientos mediante tres métodos alternativos:

El primer método consistió en un repique de una porción de 5 x 5 mm del margen de la colonia a un tubo estría con AV8.

El segundo método consistió en el repique de porciones de 5 x 5 mm del margen de la colonia a tubos de vidrio conteniendo agua destilada estéril (ADE).

El tercer método consistió en la utilización de semillas de alpiste pregerminadas y autoclavadas (Com. pers.: Flores, Ceferino). Para esto, las semillas fueron desinfectadas con solución de lavandina al 1 % durante 2 minutos y enjuagadas con agua corriente. Luego se embebieron en agua durante 24 h. A continuación se colocaron de forma separada en una cámara húmeda, que se preparó en una caja de Petri, con papel absorbente embebido en agua. Se incubaron durante 2 días en condiciones de laboratorio, hasta que la radícula emitida alcanzó 1 cm long. Este material se autoclavó. Se transfirieron 3 plántulas estériles a un tubo Eppendorf, adicionándose 2 ml de ADE. A cada tubo se agregaron 3 porciones de agar con crecimiento del microorganismo.

Para cada aislamiento se realizaron tres replicas por método y todos fueron incubados con la mismas condiciones de temperatura, en cámara regulada a 15 °C y en oscuridad.

### **III.5.5. Determinación de la compatibilidad sexual de los aislamientos**

Se realizó el apareamiento de 72 aislamientos identificados al nivel de especie, con dos aislamientos de *P. capsici* de sexualidad conocida: A1 (CBS 111.334) y A2 (CBS 370.72), cedidos por el laboratorio de Utrecht, Holanda (Fungal Biodiversity Centre, CBS).

Se sembraron porciones de 5 x 5 mm de micelio de la zona de avance de las colonias (de 7 días de crecimiento), en forma enfrentada, a una distancia de 3 cm en placas de Petri (de 9 cm diám.) con AV8. Se incubaron durante 7 días a 24 °C (Uchida, 1984) en oscuridad. Los apareamientos se realizaron con ambas cepas de referencia, A1 y A2, en placas individuales y por duplicado. Se incubaron durante 7 días a 24 °C (Uchida, 1984) en oscuridad.

En la zona de intersección de las colonias fue evaluada la presencia de gametangios y oosporas, con microscopio estereoscópico. La morfología de los mismos fue evaluada con microscopio óptico (400x). Por cada aislamiento fueron medidas 20 estructuras; se registró la configuración de los anteridios (paráginos o anfígenos) y el diámetro de los oogonios. Para esto se utilizó una cámara fotográfica adaptada al ocular del microscopio y el programa TSView.

Asimismo, para cada aislamiento se registró el tipo de apareamiento presente, A1 y / ó A2.

La determinación del tipo de apareamiento con las cepas de referencia A1 (CBS 111.334) y A2 (CBS 370.72), de *P. capsici*, se realizó al cabo de 7 días de incubación en oscuridad mediante la observación de la zona de intersección de las colonias, con los tres aislamientos por separado.

Por una cuestión de preservación de los aislamientos, esta serie no coincide con las series utilizadas para la identificación.

### **III.5.6. Identificación molecular mediante secuenciación de la región ITS 1, 5.8S e ITS 2 del ADNr.**

Los análisis moleculares se realizaron en una serie de 67 aislamientos: 5 fueron identificados por Alina Greslebin y María Laura Vélez, del Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP) y 62 en el Instituto de Genética “Ewald A. Favret” CICVyA (INTA). Estos últimos, constituyeron la base de la tesis de grado de Cecilia Borassi (2012), en el marco de un proyecto interdisciplinario entre los Departamentos de Tecnología y de Ciencias Básicas, de la Universidad Nacional de Luján (RESHCS N° 224-11).

Por una cuestión de preservación de los aislamientos, la serie que fue identificada por sus características morfológicas no coincidió en su totalidad con la identificada molecularmente.

#### **III.5.6.1. Extracción del ADN, amplificación del ADNr y edición de secuencias.**

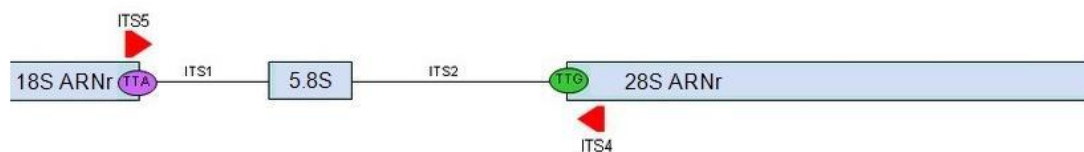
La extracción del ADN se realizó a partir de cultivos en placas de Petri con AV8 incubados en oscuridad durante 7 días. Se empleó el protocolo de Ristaino *et al.*, (1998). El micelio de cada aislamiento fue cosechado y congelado en frío seco. El ADN fue solubilizado en 25 µl de solución tampón (TE) y fue almacenado a -20 °C para su uso subsiguiente.

La determinación de la calidad y la cuantificación del ADN, se hicieron mediante electroforesis en gel.

Las reacciones de PCR fueron realizadas con los primers ITS5 (forward; 5'-GGAAGTAAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (reverse; 5'-TCCTCCGCTTAT TGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). Este par de cebadores son espaciadores transcritos internos, de allí la sigla en inglés, ITS, que amplifican la región ITS1, el gen del ARNr 5.8S, la región ITS2 y una porción del gen del ARNr 28S (Fig. 5). Cada reacción de PCR se llevó a cabo en un termociclador Eppendorf Master cyclerep

gradient S. Los productos de PCR fueron analizados en un gel de agarosa al 2 %, teñido con bromuro de etidio.

Las secuencias obtenidas fueron comparadas con secuencias publicadas y disponibles en Genbank, con el uso del programa BLAST-n (Altschul *et al.*, 1990), disponible en blast.ncbi.nlm.nih.gov. De este modo se determinó el porcentaje de correspondencia de las secuencias obtenidas de *P. capsici* y de las otras especies identificadas, de fuentes internacionales, de la región del locus ITS. Los alineamientos múltiples de las secuencias se llevaron a cabo con el programa ClustalW, aplicación disponible en Mega 5.0 (Tamura *et al.*, 2011).



**Fig. 5.** Región amplificada por los primers ITS5/ITS4.

Fuente: White *et al.* (1990).

### III.5.6.2. Análisis filogenético

#### III.5.6.2.1. Construcción de árboles filogenéticos

Las relaciones filogenéticas fueron estimadas mediante el método de Máxima Verosimilitud (*Maximum Likelihood*).

Las distancias genéticas entre y dentro de los grupos definidos por el análisis filogenético fueron calculadas con el programa MEGA, empleando el modelo de Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993), el que toma en cuenta las diferencias en la tasa de sustitución entre nucleótidos y la desigualdad en las frecuencias de nucleótidos. También asume igualdad en la tasa de sustitución entre todos los sitios. La estimación del desvío estándar se obtuvo mediante el procedimiento de *bootstrap* (100 réplicas).



### **III.5.6.2.2. Construcción de redes filogenéticas**

Se construyeron redes filogenéticas para visualizar las relaciones evolutivas entre las secuencias. Para esto primero fueron determinados los diferentes haplotipos con el programa ADNsp (versión 5.10.01, Rozas & Librado, 2009); un haplotipo se puede definir como la constitución alélica de múltiples loci para un mismo cromosoma. Luego se procedió al cálculo de las redes mediante el método *Median Joining* disponible en Network (versión 4.6.0.0, Fluxus Technology Ltd., 2010), que consiste en la introducción de los nodos ancestrales más probables en la red de secuencias observadas. A continuación, son conectados los haplotipos que difieren por un cambio, luego los que difieren por dos, por tres, y así sucesivamente, hasta que todos los haplotipos quedan incluidos en una única red.

### **III.5.6.2.3. Análisis preliminar de la variabilidad y la estructura genética de *P. capsici***

El análisis preliminar de la variabilidad y la estructura genética de *P. capsici* se realizó con una serie integrada por 61 aislamientos identificados como *P. capsici*, por ambos métodos previamente descriptos, a partir de un locus o región del ADNr compuesta por: la subregión ITS1, el gen del ARNr 5.8S, la subregión ITS2 y una porción del gen del ARNr 28S.

El análisis de la variabilidad se realizó con el programa ADNSPv5 v5.10.01 (Rozas & Librado, 2009). Para esto se calcularon estimadores de polimorfismo para el total de la muestra y para particiones, por localidad y por hospedante. Se calcularon los siguientes índices de diversidad: el número de sitios de segregación (s), el número de haplotipos (h), la diversidad de haplotipos (Hd) (Nei, 1978), Tajima's ( $\pi$ ) (Tajima, 1983) y Watterson's theta ( $\theta_w$ ) por secuencia (Watterson, 1975) y el número promedio de diferencias entre pares de secuencias (k).

La estructura genética por localidad (Fst) y por hospedante (AMOVA, Fst) fue analizada con Arlequin 3.5 (Excofier & Lischer, 2010). La significancia fue determinada con el uso de 1000 permutaciones.

### III.6. Análisis de la sensibilidad al metalaxil

La sensibilidad al metalaxil fue evaluada en 67 aislamientos de especies de *Phytophthora* identificados por los métodos moleculares: 56 correspondieron a *P. capsici*, 7 a *P. nicotianae*, 2 a *P. drechsleri* y 2 a *P. cryptogea*, más los dos aislamientos que correspondieron a las cepas de referencia (CBS 111.334 y CBS 370.72).

Se transfirió una porción de 5 x 5 mm, del cultivo en activo crecimiento (7 días de crecimiento en placas con AV8) de cada aislamiento de *P. capsici* al centro de una placa de 9 cm diám. con AV8 y 100 ppm de metalaxil (Lamour & Hausbeck, 2000). Para los controles se transfirió una porción de cultivo, del mismo modo, a una placa con AV8 sin metalaxil. El metalaxil (formulado comercial, al 45 %) fue suspendido en ADE y adicionado al AV8 previamente enfriado a 50 °C (Lamour & Hausbeck, 2000). Las placas fueron incubadas en oscuridad, a 24 °C durante 4 días. Se registraron dos medidas perpendiculares del diámetro de las colonias.

Para el cálculo del crecimiento de las colonias se substrajo el diámetro correspondiente a la porción de cultivo inoculada, al diámetro de la colonia desarrollada y se dividió por el diámetro de las colonias desarrolladas en las placas control. De este modo se obtuvo el porcentaje de crecimiento de cada aislamiento, con la adición del metalaxil (Deahl *et al.*, 1995). Los aislamientos fueron caracterizados como sensibles, parcialmente sensibles o resistentes, cuando el crecimiento en la placa con 100 ppm de metalaxil fue mayor a 91 %, entre 30 - 90 % y menor de 29 %, respectivamente (Lamour & Hausbeck, 2000; Gobena *et al.*, 2012).

### III.7. Patogenicidad y virulencia de los aislamientos de *P. capsici*

La patogenicidad y la virulencia fueron estimadas en dos experimentos de inoculación, en frutos y en plantines de representantes de las familias Solanáceas y Cucurbitáceas.

### III.7.1. Evaluación preliminar de patogenicidad con tres aislamientos de *P. capsici* inoculados en plantines de berenjena, zapallito, tomate y pimiento, mediante dos métodos alternativos

Se seleccionaron al azar 3 aislamientos de *P. capsici*, de la serie de aislamientos identificada previamente por morfología, los que fueron inoculados en plantines de pimiento, tomate, berenjena y zapallito de 30 días de crecimiento. Los mismos fueron adquiridos en un vivero, provistos en bandejas de germinación.

Se utilizaron 2 métodos de inoculación por duplicado:

El primero consistió en adherir una porción de AV8, de 5 x 5 mm, con micelio en activo crecimiento (7 días) a la base del tallo con cinta de papel, por lo que se denominó: **tratamiento AV8**.

En el segundo caso el inóculo estuvo constituido por semillas de mijo inoculadas, por lo que se denominó **tratamiento MI**. El proceso de inoculación consistió en embeber las semillas del cereal durante 4 horas, colocarlas en placas de Petri de 20 cm de diámetro y esterilizar en autoclave por duplicado. Estas fueron distribuidas sobre placas en las que había crecimiento de los aislamientos de *P. capsici*. Se incubó a temperatura ambiente en oscuridad hasta que se observó desarrollo de micelio en las semillas. Este inóculo, una vez mezclado con el sustrato, se colocó en pequeñas macetas a las que se transplantaron los plantines con su correspondiente pan de tierra.

Para los controles de ambos métodos se utilizó solo agar y semillas esterilizadas respectivamente. Todos los tratamientos se incubaron en condiciones naturales. Se realizaron observaciones periódicas y se registró el marchitamiento al cabo de 3 semanas.

### **III.7.2. Evaluación de la patogenicidad y la virulencia en frutos de pimiento, zapallito, tomate y berenjena**

En base a los resultados del punto anterior (Ítem III.7.1) se seleccionó el método de inoculación de frutos. Se utilizaron frutos comerciales de pimiento (Almuden), tomate (Elpida), berenjena (Media Bocha) y zapallito (Angelo) y 14 aislamientos representativos de cada especie vegetal y localidad (6 aislamientos fueron obtenidos de zapallito, 4 de berenjena, 2 de pimiento y 2 de tomate). Consistió en colocar sobre la superficie de los frutos un trocito de AV8 (0,5 x 0,5 mm) con micelio en activo crecimiento, sellado con cinta de papel. Para los controles se colocó un trocito simple de AV8 sobre los frutos, del mismo modo. Los frutos fueron incubados a temperatura ambiente en recipientes de plástico con papel de filtro embebido en agua y encerrados en bolsas plásticas, formando de este modo una cámara húmeda.

Fueron realizadas tres repeticiones por aislamiento, consistiendo cada repetición en un fruto con un único punto de inoculación.

Al cabo de siete días, se midieron dos diámetros perpendiculares en la lesión y a partir de ambos se obtuvo el diámetro medio. Se calculó el área de la misma, considerando que tuvieron una forma aproximadamente circular. El factor analizado fue el aislamiento, que se diferenció en grupos (1, 2, 3 y 4) según el hospedante a partir del cual se originó (zapallito, berenjena, tomate y pimiento). La patogenicidad y la virulencia se evaluaron mediante ANOVA, utilizando el programa SPSS 2.1.

### **III.8. Determinación de la presencia de oosporas de *Phytophthora* spp. a partir de residuos de tejidos vegetales**

En un lote de cultivo de berenjena, en el estadio final de su ciclo productivo, donde se evidenció una distribución generalizada de la enfermedad causada por *Phytophthora* spp., se colectaron al azar muestras de tejidos de los tallos, de los frutos infectados y de suelo.

A partir de las zonas de avance de las lesiones se determinó la presencia de *P. capsici*, según se detalló previamente (Ítem III.5.1 y III.5.3).

Se utilizaron porciones de tallos y de frutos, en los que previamente se había identificado la presencia de *P. capsici*. Los mismos, se enterraron en macetas de nylon negro (de 16 cm long x 12 cm diám), conteniendo suelo de un sitio con pastura natural de gramíneas, sin antecedentes de la enfermedad causada por *Phytophthora* spp. El ensayo se repitió por sextuplicado. Se incubó sobre una mesada al aire libre. Al cabo de: 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días, se extrajeron tallos y frutos. Se practicaron cortes longitudinales con bisturí para extraer porciones del tejido interno y se realizaron preparados para observar con microscopio óptico.

### **III.9. Detección de otros microorganismos asociados a las partes aéreas en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas**

En los cultivos se encontraron además otras patologías y en este caso se identificaron los géneros de los agentes etiológicos mediante muestreo, posterior observación directa en el laboratorio, al microscopio estereoscópico y en los casos que fue necesario se indujo el signo mediante la preparación de cámaras húmedas. Para esto el material se colocó en cajas de plástico con una base de algodón y papel humedecido y se incubó sobre la mesada del laboratorio con luz natural hasta la aparición de estructuras reproductivas. El material vegetal con el que se realizaron las cámaras húmedas se desinfectó cuando no pudo ser procesado inmediatamente después de la recolección o cuando correspondió a órganos que yacían en contacto con el suelo. Cuando el material estuvo cubierto por tierra, primeramente se lo lavó bajo chorro de agua para eliminar el excedente. La desinfección superficial consistió en la aplicación de alcohol 70° durante 30 segundos, luego una solución con lavandina comercial al 0,5 %, tres enjuagues con agua destiladas estéril y posterior secado del material con papel absorbente.

En algunos casos se hicieron siembras en APD. A partir del material previamente desinfectado, en la CFL, se extrajeron porciones del tejido interno, de la zona de avance de las lesiones, y se sembraron en el medio agarizado.

Las placas se incubaron con un fotoperíodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, a 24 °C, hasta que el crecimiento de las colonias alcanzó de 2 a 3 cm de

diámetro. Se transfirieron los extremos hifales a placas con APD y se incubó bajo las mismas condiciones, para obtener cultivos puros.

La identificación de los géneros de hongos se realizó en base a las descripciones bibliográficas de las patologías producidas (Jones *et al.*, 1991; Barnett & Hunter, 1998; Pernezny *et al.*, 2003; Zitter *et al.*, 2004 & Koike *et al.*, 2007).

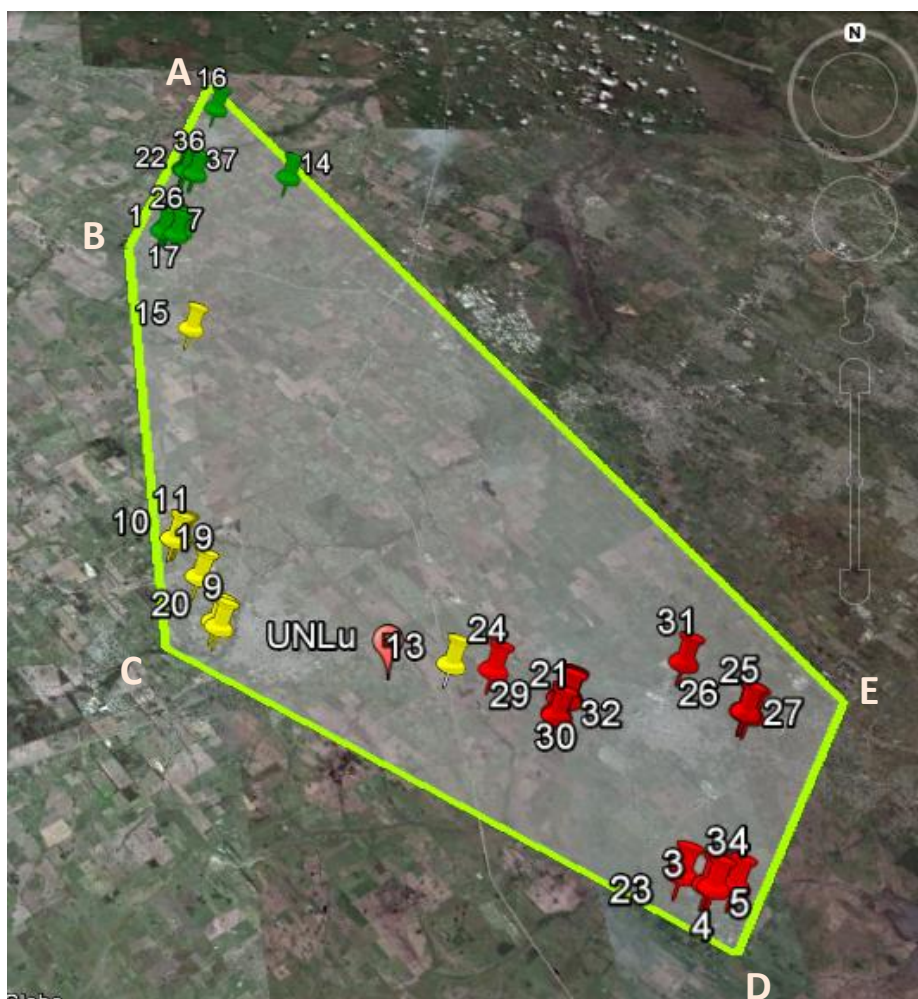
A black and white micrograph showing a single, elongated, pear-shaped organism. The main body is large, oval, and filled with a dense, granular texture. It has a thin, dark outer boundary. A long, thin, whip-like tail extends from the bottom of the main body. The background is light gray with some faint, scattered particles. The word "RESULTADOS" is overlaid in large, bold, black capital letters across the middle of the image.

# RESULTADOS

## IV. RESULTADOS

### IV.1. Identificación de las unidades productivas con presencia de especies de *Phytophthora* spp.

Se identificaron 37 unidades de producción hortícola, las que se ubicaron en agrupamientos separados en los partidos de: Luján, Gral. Rodríguez y Exaltación de La Cruz. En Luján se identificaron 8 unidades productivas, en General Rodríguez 17 y en Exaltación de la Cruz 12 (Fig. 6 y Anexo 1.1).



**Fig. 6.** Ubicación geográfica de las quintas muestreadas.

Fuente: Digital Globe, 31/5/2015. Google earth.

Ubicación de las explotaciones según partido;

- Gral. Rodríguez (en rojo): 3, 4, 5, 8, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 y 34);
- Luján (en amarillo): 9, 10, 11, 12, 13, 15, 19 y 20),
- Exaltación de la Cruz (en verde): 1, 2, 6, 7, 14, 16, 17, 18, 22, 35, 36 y 37).
- El símbolo con la denominación UNLu indica la ubicación de la Estación Meteorológica de la Universidad Nacional de Luján.



La distancia máxima entre estas unidades fue, aproximadamente, de 45 km y se extendieron en un área de 700 km<sup>2</sup>, medida con Free Map Tools ([www.freemaptools.com](http://www.freemaptools.com)). Esta se ubicó entre las coordenadas: **A:** 34° 14'55'' S, 59° 5'43'' O; **B:** 34° 21'52'' S, 59° 9'20'' O; **C:** 34° 34'18''S, 59° 9'24'' O; **D:** 34° 41'21'' S, 58° 57' 1''O y **E:** 34° 35' 44'' S, 58° 52'23'' O. (Fig. 6).

A partir de las explotaciones hortícolas visitadas, durante 2010 – 2011, se obtuvieron 112 registros de la presencia / ausencia de *Phytophthora* spp., en 56 lotes que incluyeron los cultivos de interés. En la mayoría de las explotaciones, hubo presencia de al menos dos de estos hospedantes (Tabla 1).

**Tabla 1.** Presencia / Ausencia de *Phytophthora* spp. por hospedante en los lotes muestreados

			Phytophthora spp.		Total
			Ausencia	Presencia	
Hospedante	Zapallito	N° de lotes	13	26	39
		% de Hospedante	33,3%	66,7%	100,0%
		% de Presencia	22,8%	47,3%	34,8%
		% del total	11,6%	23,2%	34,8%
	Berenjena	N° de lotes	18	17	35
		% de Hospedante	51,4%	48,6%	100,0%
		% de Presencia	31,6%	30,9%	31,3%
		% del total	16,1%	15,2%	31,3%
	Tomate	N° de lotes	22	7	29
		% de Hospedante	75,9%	24,1%	100,0%
		% de Presencia	38,6%	12,7%	25,9%
		% del total	19,6%	6,3%	25,9%
	Pimiento	N° de lotes	4	5	9
		% de Hospedante	44,4%	55,6%	100,0%
		% de Presencia	7,0%	9,1%	8,0%
		% del total	3,6%	4,5%	8,0%
Total		N° de lotes	57	55	112
		% de Hospedante	50,9%	49,1%	100,0%
		% de Presencia	100,0%	100,0%	100,0%
		% del total	50,9%	49,1%	100,0%

Cerca del 50 % (55) de las muestras obtenidas estuvieron afectadas por *Phytophthora* spp. y el resto presentó otras patologías o ninguna. Las mismas incluyeron cultivos de zapallito (35 %), de berenjena (31 %), de tomate (26 %) y de

pimiento (8 %) (Tabla 1 y Anexo 1.2). La proporción de muestras colectadas por hospedante estuvo directamente asociada a la superficie cultivada al aire libre con estas especies en la zona.

Los lotes con presencia *Phytophthora* spp. estuvieron distribuidos geográficamente del siguiente modo: 11 en Luján, 22 en General Rodríguez y 22 en Exaltación de la Cruz y cada uno ocupó una superficie promedio estimada de 991 m<sup>2</sup> que fluctuó entre 100 m<sup>2</sup> y 2200 m<sup>2</sup> (Anexo 1.2).

El sistema de riego predominante en el cultivo de las Solanáceas (el pimiento, el tomate y la berenjena), fue el de goteo, mientras que en el cultivo de las Cucurbitáceas (el zapallito y el zucchini), predominó el riego por surco. En estos últimos, el riego por goteo se utilizó, exclusivamente, cuando el cultivo antecesor fue la frutilla, aprovechándose así la instalación del sistema de riego previamente instalado.

Los cultivos antecesores de los hospedantes muestreados fueron aleatorios, dado que en las explotaciones de la zona no se planifican las rotaciones de cultivo.

El cultivo de los hospedantes de interés, en la mayoría de las explotaciones, se inició con plantines obtenidos en viveros privados (originados de semillas importadas). Su disponibilidad condicionó las variedades empleadas en cada quinta. Las variedades comerciales empleadas para los cultivos fueron, en el caso del zapallito: Angelo; en el caso de la berenjena: Media bocha, Noviello y Classic Bernal; en el caso del pimiento: Jazmín, Red Beauty, Platero y Aconcagua y en el caso del tomate: Zorzal, Santa Paula, Maresma, Elpida y Valorum. La variedad comercial utilizada para el cultivo de zucchini no fue especificada (Anexo 2).

Los trasplantes a los lotes de producción se realizan en octubre, cuando desaparece el riesgo de las heladas tardías. La fructificación comienza en enero y finaliza el ciclo productivo con la aparición de las primeras heladas, hacia fines de abril.

Esta ventana de producción se amplió, en algunos casos, cuando se implementó el cultivo bajo cubierta, situación que recrea un microclima, con temperaturas más elevadas que la temperatura del ambiente, pero que al mismo

tiempo implica un obstáculo para la incidencia de las precipitaciones. Como el impacto de las gotas de lluvia constituye una forma de dispersión de *Phytophthora* spp., para poder analizar el comportamiento de este patógeno, solo fueron incluidos los lotes con cultivo al aire libre.

## **IV.2. Descripción de la zona de muestreo**

### **Aspectos topográficos y edáficos**

De acuerdo con las cartas topográficas, la zona de muestreo se emplazó en un área geográfica de relieve plano.

Los suelos presentes en la zona bajo estudio, donde se ubicaron los lotes de producción fueron Argiudoles Vérticos, Argiudoles Abrúpticos, Natracualf Típicos y Argialboles Típicos. Comprenden las series de Capilla del Señor, Portela, Solís, Brandsen, San Vicente, Las Heras y Gowland. El material originario de estos suelos son sedimentos loésicos en su mayoría y sedimentos eólicos. El drenaje varía según la posición en el paisaje, entre pobremente drenado en los ambientes bajos y bien drenado en las lomas; la textura es franco limosa a franco arcillo limosa. El pH en pasta fluctúa entre 5,3 y 7,5.

### **Aspectos climáticos**

Las variables climáticas, precipitación y temperatura, registradas en la estación meteorológica de la Universidad Nacional de Luján, arrojaron los siguientes datos:

La precipitación anual acumulada para el 2010 y el 2011 fue respectivamente, 1047 mm y 876 mm. El promedio histórico de mm acumulados para la misma zona, según el registro de 1988 a 2014, es de 1099 mm, aunque esporádicamente se presentaron valores extremos, como en 2008 (612,8 mm) y en 2014 (1794,3 mm) (Anexo 5).

Las precipitaciones mensuales acumuladas durante enero – abril, período en el cual hubo presencia de la enfermedad, para el 2010 fueron de 619 mm,

distribuidas en 24 eventos, mientras que para el 2011 fueron de 495 mm, distribuidas en 29 eventos, aunque su número *per se* tiene poca influencia en el desarrollo de la enfermedad (Bowers *et. al*, 1990). De acuerdo con Ristaino (1991), para que las precipitaciones sean efectivas para el desarrollo de la enfermedad deben superar los 20 mm. Por lo tanto, si se cuantifican solo estos eventos, su número se redujo a 10 para el 2010 y a 8 para 2011.

Durante el periodo de interés, la temperatura máxima media mensual correspondió al mes de enero y fue de 30,5 °C para el 2010 y de 32,5 °C para el 2011. La temperatura mínima media mensual, correspondió al mes de abril y fue de 9,1 °C para 2010 y 10,8 °C para 2011. Las temperaturas medias para el período de muestreo fueron de 20,9 °C y 21,3 °C para 2010 y 2011, respectivamente (Anexo 6).

El clima de la ciudad de Luján, cuya ubicación es central con respecto a los partidos de Exaltación de la Cruz y General Rodríguez, según la clasificación de Köppen (Carballo & Goldberg, 2014), se caracteriza por tener un clima templado húmedo con verano caliente, debido a la distribución de precipitaciones a lo largo de todo el año y a que la temperatura media del mes más cálido (enero) supera los 22 °C.

### **Aspectos socioeconómicos y productivos**

Las quintas que integraron la zona de muestreo fueron de tipo familiar, manejadas en su mayoría por inmigrantes, con la excepción de tres productores de origen nacional. Esta actividad se desarrolló en un contexto de producciones agropecuarias extensivas y de urbanizaciones. La extensión de las mismas en la mayoría de los casos fluctuó desde 1 a 10 ha, aunque hubo algunas excepciones como el productor Tacistro de General Rodríguez que posee 40 ha de su propiedad con cultivos hortícolas. Los más pequeños en general utilizaron la tierra bajo el régimen de arrendamiento, con contratos bianuales, lo que induce a que las producciones cambien de lugar en el transcurso de unos pocos años. Esto se evidenció en el segundo año de muestreo, al haber dejado de existir las quintas de los productores: Choque, Callaguara, Mamani, Menacho y Velázquez Florindo, y haber aparecido quintas nuevas (Anexo 2). Los productores más grandes, en

cambio, en la mayoría de los casos son propietarios y poseen un puesto en el mercado, lo que contribuye a su estabilidad en el tiempo.

Las explotaciones hortícolas se caracterizaron por la producción asociada de cultivos de diversas familias, de modo simultáneo, en sucesiones sin solución de continuidad. En todos los casos hubo una amplia diversidad de especies cultivadas (Fig. 7), en respuesta a las necesidades locales de comercialización. Las mismas correspondieron a las familias botánicas: Solanáceas (berenjena, tomate, pimiento), Cucurbitáceas (zapallito de tronco, zucchini), Crucíferas (repollo, brócoli, coliflor), Apiáceas (perejil, hinojo), Compuestas (lechuga, achicoria), Chenopodiáceas (acelga, remolacha, espinaca), Amarilidáceas (cebolla de verdeo, puerro) y Fabáceas (chaucha). Asimismo, como estas especies se siembran de modo continuo y escalonado, en una misma unidad productiva fue frecuente observar la coexistencia de lotes de una misma especie en diferentes estados fenológicos. Todo lo cual, contribuyó a la complejidad del sistema de producción.



**Fig. 7.** Ejemplificación de la diversidad de cultivos hortícolas en una quinta del partido de Luján; Productor Tacistro.  
Fuente: Digital Globe, 9/7/2013. Google earth.

El cultivo de zapallito se realizó al aire libre mientras que el de Solanáceas se realizó mayoritariamente al aire libre y en unos pocos casos (no considerados en este estudio) fueron realizados bajo cubierta, especialmente el tomate y el pimiento. La implementación de la tecnología de invernadero está directamente asociada al valor económico más elevado que se obtiene por el cultivo de estas especies, que

justifica su inversión. Sin embargo, en esta zona, a diferencia de la zona de La Plata, ésta tecnología aún no ha sido ampliamente difundida.

El patrón de distribución de las enfermedades debidas a *Phytophthora* en los lotes de muestreo fue variable. En algunos casos, las plantas afectadas se encontraron al azar, mientras que en otros fue notable su agregación. Esta última situación estuvo asociada, con frecuencia, a zonas bajas del terreno o de drenaje insuficiente, con acumulación de agua. En estos casos hubo una asociación directa entre la presencia de agua libre y de plantas enfermas.

En cuanto al control de las malezas que se realizó en los cultivos, este fue manual, y en la mayoría de los casos, poco eficiente. Se observó la presencia recurrente de malezas, tanto en los entresurcos de los cultivos como en los lotes libres de cultivo. Las especies observadas fueron en su mayoría de hoja ancha: verdolaga (*Portulaca oleracea* L.) (Fig. 8 y 9), capiquí (*Stellaria media* L. Vill.) (Fig. 10), ortiga (*Urtica urens*) (Fig. 10) y espina colorada (*Solanum sysimbrifolium* L.). También hubo abundante presencia de gramíneas como capín (*Echinochloa crus-galli* (L.) (Fig. 11), sobre todo en los lotes libres, abandonados al avance de la naturaleza.

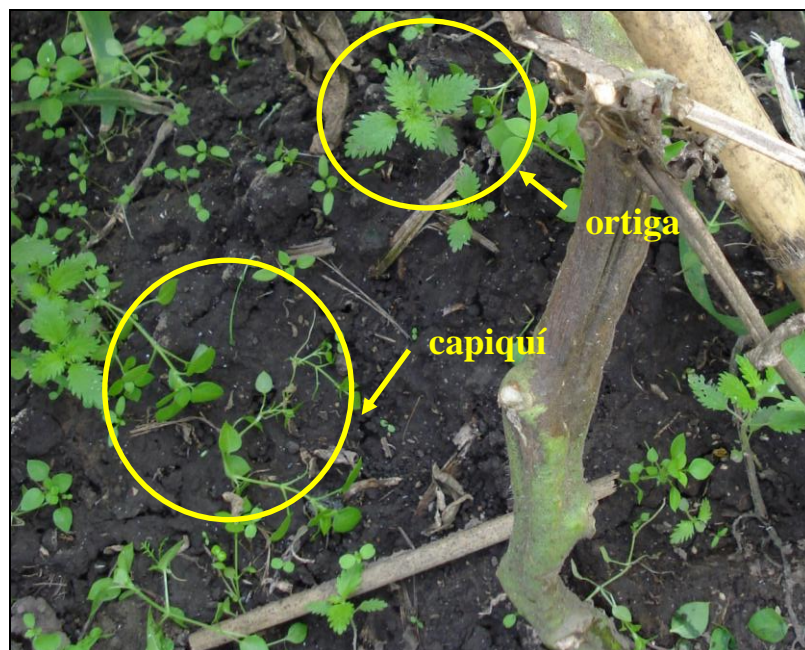


**Fig. 8.** Cultivo de zapallito con presencia de verdolaga en el entresurco





**Fig. 9.** Cultivo de tomate con presencia se verdolaga en el entresurco



**Fig. 10.** Cultivo de tomate con presencia de ortiga y capiquí





**Fig. 11.** Cultivo de zapallito con presencia de capín en el surco

#### **IV.3. Muestreo de *Phytophthora* spp. en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas**

De las 37 unidades productivas visitadas durante la estación de los cultivos, se obtuvieron 213 muestras, durante los dos años de muestreo, desde enero a abril. Se colectaron muestras de los cuatros hospedantes de interés: zapallito, berenjena, tomate y pimiento, de los diferentes órganos aéreos de la planta, tanto frutos, tallos, como brotes y de plantines, donde se observó la presencia de los síntomas típicos de *Phytophthora* spp. (Tabla 2). A partir de las mismas se obtuvieron los respectivos aislamientos.



**Tabla 2.** Muestras obtenidas de cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas (2010 – 2011)

<b>Año</b>	<b>Localidad</b>	<b>Hospedante</b>	<b>Productor</b>	<b>Órgano</b>	<b>Fecha*</b>
2010	Luján	Zapallito	Choque 1	fruto	15-mar
2010	Luján	Zapallito	Choque 2	fruto y tallo	16-mar
2010	Luján	Zapallito	Choque 3	fruto	16-mar
2010	Luján	Zapallito	Oliveira	tallo	16-mar
2010	Luján	Zapallito	Menacho	tallo y fruto	17-mar
2010	Gral. Rodríguez	Zapallito	Villafuerte A.	tallo	15-ene
2010	Gral. Rodríguez	Zapallito	Anagua	fruto	11-feb
2010	Gral. Rodríguez	Zapallito	Velazquez E.	fruto y tallo	12-feb
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Achura 1	tallo	18-feb
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Mamani J.	tallo	18-feb
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Jo	tallo	03-mar
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Achura 2	fruto	26-mar
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Villafuerte D.	fruto	07-abr
2010	Luján	Berenjena	Choque 1	tallo y fruto	15-ene
2010	Luján	Berenjena	Choque 2	fruto y tallo	16-mar
2010	Luján	Berenjena	Callaguara	tallo y fruto	17-mar
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Uño 1	tallo	21-ene
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Anagua	fruto	11-feb
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Velazquez E.	fruto	12-feb
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Uño 2	tallo y fruto	08-mar
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Velazquez F.	fruto	03-mar
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Achura 1	fruto	18-feb
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Apasa 1	fruto	18-feb
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Mamani M.	fruto	18-feb
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Apasa 2	fruto	26-mar
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Villafuerte D.	fruto y tallo	07-abr
2010	Gral. Rodríguez	Tomate	Uño 1	tallo	18-feb
2010	Gral. Rodríguez	Tomate	Uño 2	tallo y fruto	08-mar
2010	Gral. Rodríguez	Tomate	Velazquez F.	tallo	03-mar
2010	Ex. de La Cruz	Tomate	Jo 1	tallo y fruto	03-mar
2010	Ex. de La Cruz	Tomate	Apasa 1	tallo	26-mar
2010	Ex. de La Cruz	Pimiento	Achura 2	fruto	26-mar
2010	Ex. de La Cruz	Pimiento	Apasa 1	tallo	26-mar
2010	Ex. de La Cruz	Pimiento	Villafuerte D.	fruto y tallo	12-mar
2011	Luján	Zapallito	Oliveira	fruto	12-mar
2011	Gral. Rodríguez	Zapallito	Velazquez A.	fruto	5-may
2011	Gral. Rodríguez	Zapallito	Uño 1	fruto	15-feb
2011	Gral. Rodríguez	Zapallito	Anagua	fruto	18-abr
2011	Gral. Rodríguez	Zapallito	Uño Zucch.	fruto	15-abr
2011	Gral. Rodríguez	Zapallito	Tacistro	fruto	23-mar
2011	Ex. de La Cruz	Zapallito	Apasa 1	tallo y fruto	28-feb

2011	Ex. de La Cruz	Zapallito	Achura 1	fruto y tallo	30-abr
2011	Luján	Berenjena	Tacistro	fruto	17-ene
2011	Gral. Rodríguez	Berenjena	Aguilar	tallo, fruto y brote	14-abr
2011	Gral. Rodríguez	Berenjena	Velazquez E.	fruto	15-abr
2011	Ex. de La Cruz	Berenjena	Apasa 2	fruto	15-abr
2011	Luján	Tomate	Jo 1	fruto	17-abr
2011	Gral. Rodríguez	Tomate	Velazquez Ro.	fruto y tallo	04-abr
2011	Gral. Rodríguez	Tomate	Anagua	fruto	14-abr
2011	Ex. de La Cruz	Tomate	Achura 2	fruto	14-abr
2011	Ex. de La Cruz	Tomate	Achura 2	fruto	14-abr
2011	Ex. de La Cruz	Tomate	Villafuerte S.	fruto	14-abr
2011	Ex. de La Cruz	Tomate	Apasa 1	plantín	18-abr
2011	Gral. Rodríguez	Pimiento	Velazquez Ro.	tallo y fruto	15-feb
2011	Gral. Rodríguez	Pimiento	Beatr Chile	fruto	07-ene
2011	Ex. de La Cruz	Pimiento	Apasa 1	tallo	17-mar

\*Fecha: fecha de obtención de las muestras

Se registraron de acuerdo con el año y el origen: la localidad, el productor, el hospedante y el órgano afectado, del cual provino. Además se registró la fecha en que fueron colectadas las muestras.

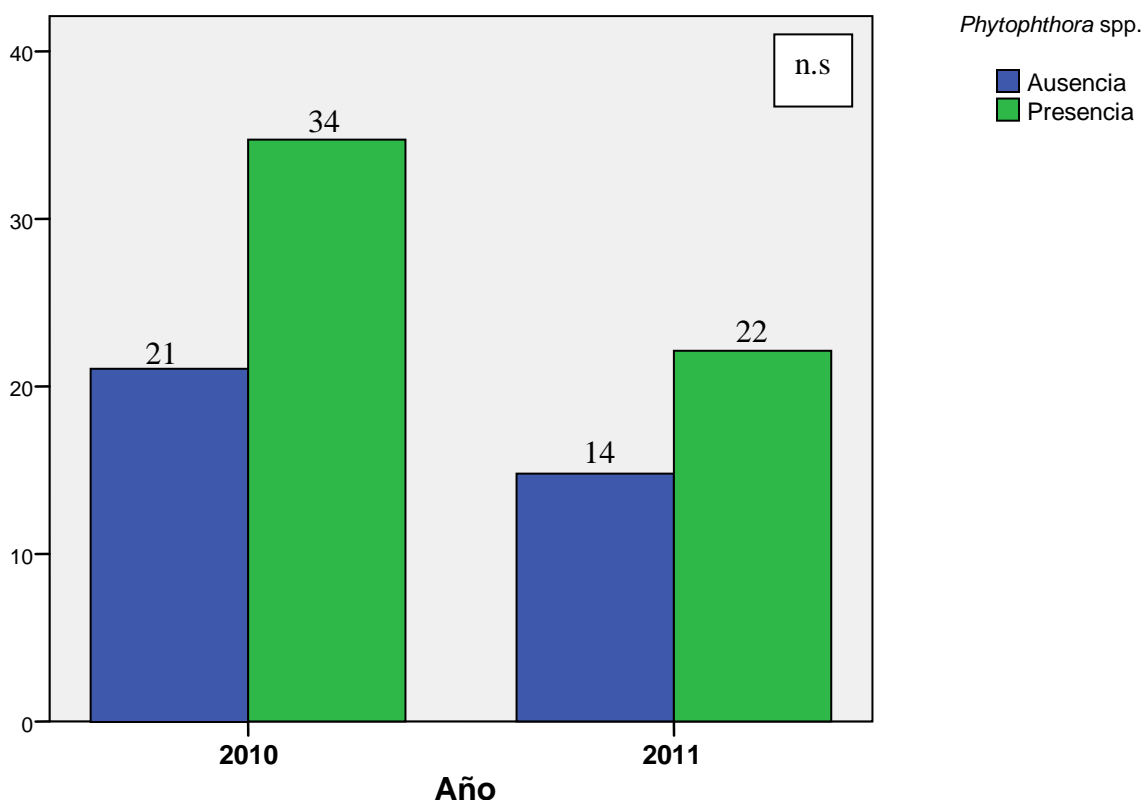
#### IV.3.1. Descripción de las variables encontradas en el muestreo

Las variables observadas para la zona de muestreo durante el período estudiado fueron: el año, la localidad, el productor, el hospedante y el órgano afectado. Se analizó su asociación con los registros de presencia o ausencia de *Phytophthora* spp. mediante la elaboración de tablas de contingencia.

En los gráficos que siguen a continuación, se entiende por recuento de casos al número de muestras donde se ha detectado la presencia o la ausencia de *Phytophthora* spp. En los casos se individualiza al lote con el hospedante que se encontró afectado ya sea: a nivel de fruto, tallo, brote y / o plantín. Es decir, que en un mismo lote se pudo presentar más de un caso.

Cuando se compararon los dos años de muestreo, primer variable considerada en el análisis, se observó que el recuento de casos totales fue mayor en el primer año respecto del segundo (55 sobre 36) pero la tendencia de la presencia y ausencia fue similar en ambos años, predominando el número de casos con presencia de *Phytophthora* spp. (34 sobre 21 casos de presencia en el primer año y 22 sobre 14 en el segundo) (Fig. 12). Estos resultados quedaron reflejados en el análisis de las tablas de contingencia para estas variables, el que mostró ausencia de asociación ( $p = 0,419$ ) (Anexo 3).

**Recuento de casos**

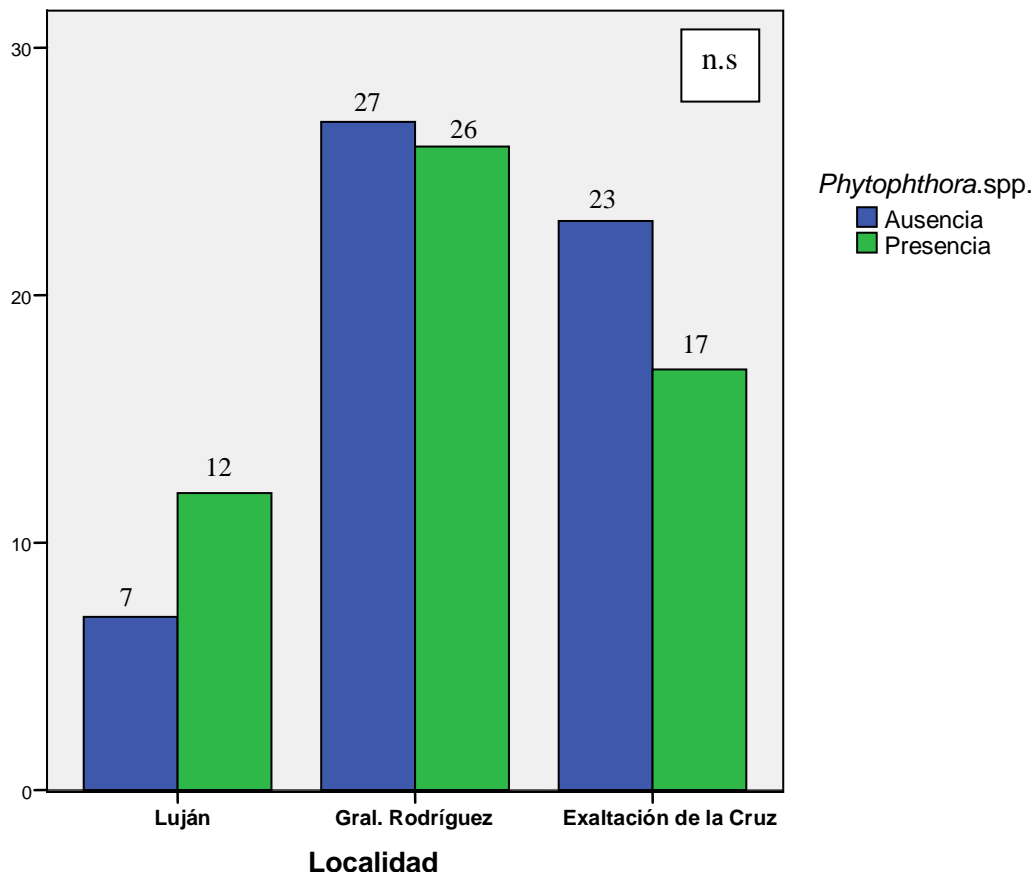


**Fig. 12.** Presencia / Ausencia de *Phytophthora* spp. por año

Del mismo modo, tampoco hubo asociación con las localidades ( $p = 0,333$ ) (Anexo 3). En las tres localidades se observaron tanto casos de presencia como de ausencia de *Phytophthora* spp. Sin embargo, en Gral. Rodríguez se obtuvo el mayor recuento de casos totales, seguido por Exaltación de La Cruz y Luján, pero en esta

última localidad la proporción de presencia superó a la de ausencia de *Phytophthora* spp. (Fig. 13).

**Recuento de casos**

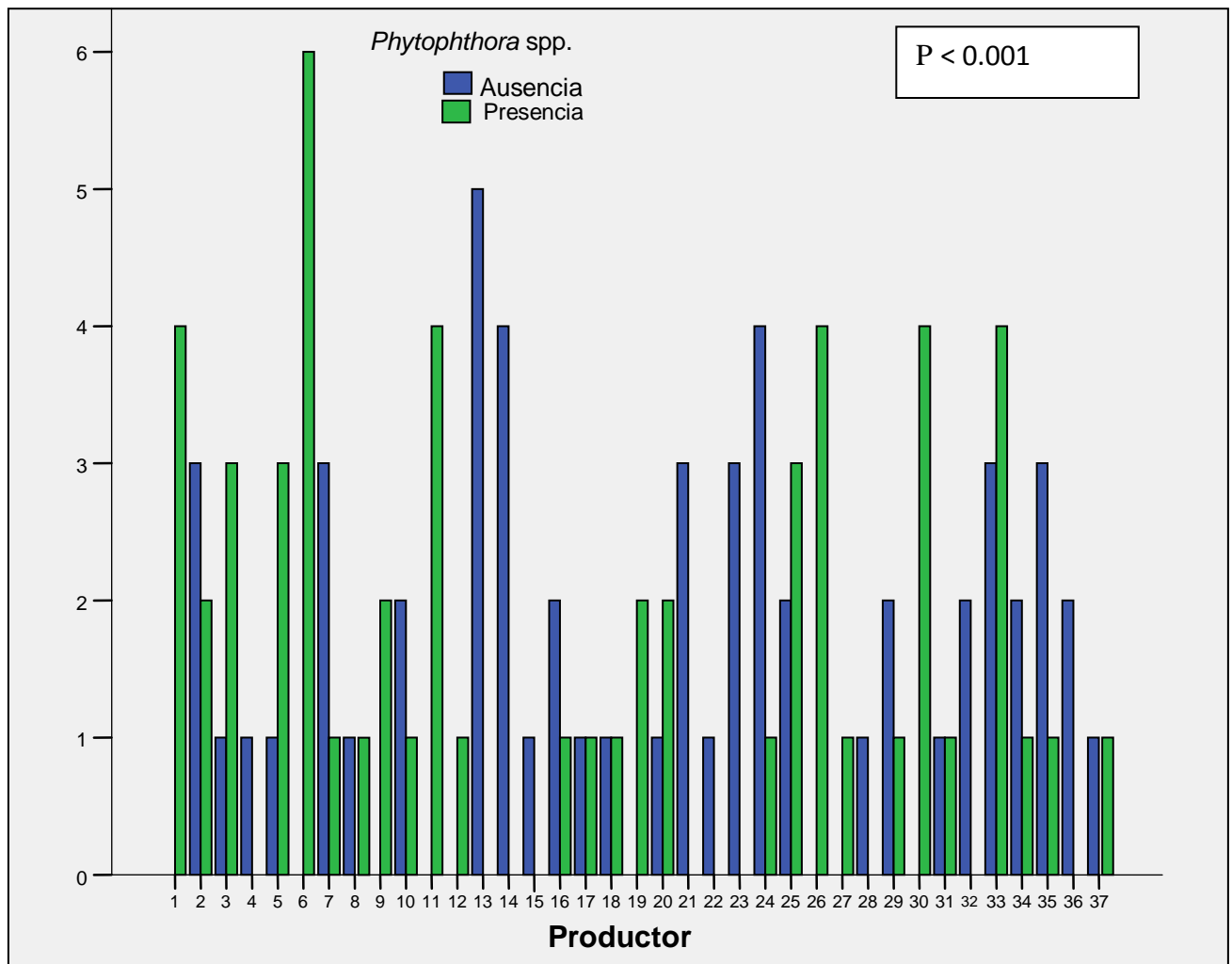


**Fig. 13.** Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por localidad

El análisis de la asociación entre los productores y la presencia o ausencia de *Phytophthora* spp., mostró que el único productor que presentó los cuatro cultivos de interés con presencia de *Phytophthora* spp. fue el número 6 (Apasa 1), con seis casos de combinaciones hospedante – órgano afectado. Los productores: 1 (Achura 1), 11 (Choque 2), 26 (Uño 2), 30 (Velázquez E.) y 33 (Velázquez Ro.) presentaron al menos dos cultivos, con cuatro casos cada uno. De los 37 productores muestreados solo diez (4,13,14,15,21,22,23,28,32 y 36), que estuvieron distribuidos en las tres localidades, presentaron ausencia de *Phytophthora* spp. (Fig. 14). Esta variable presentó asociación significativa con la presencia / ausencia de

*Phytophthora* spp. (Chi- cuadrado = 60,9;  $p < 0,01$ ; y el nivel de asociación = 0,74) (Anexo 3).

#### Recuento de casos

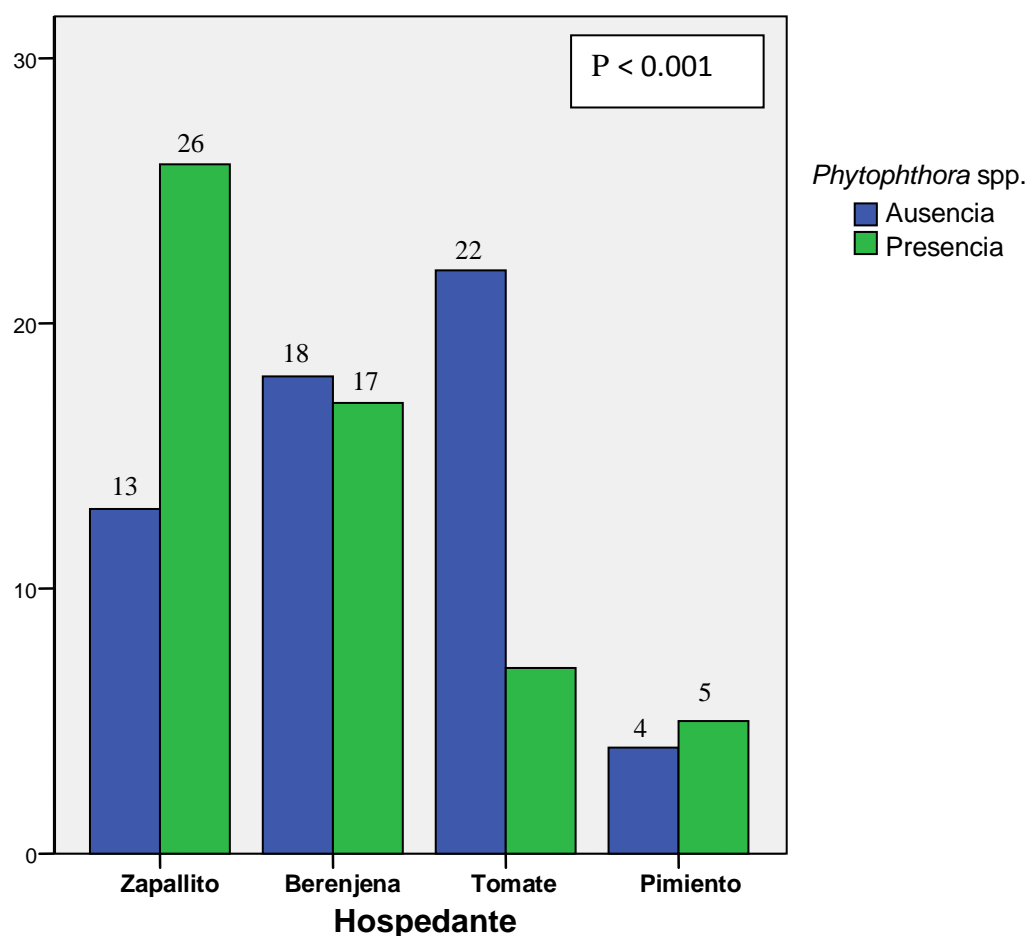


**Fig. 14.** Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por productor

Los productores se individualizan con números y los recuentos corresponden al número de casos con presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. (Anexo 1.1).

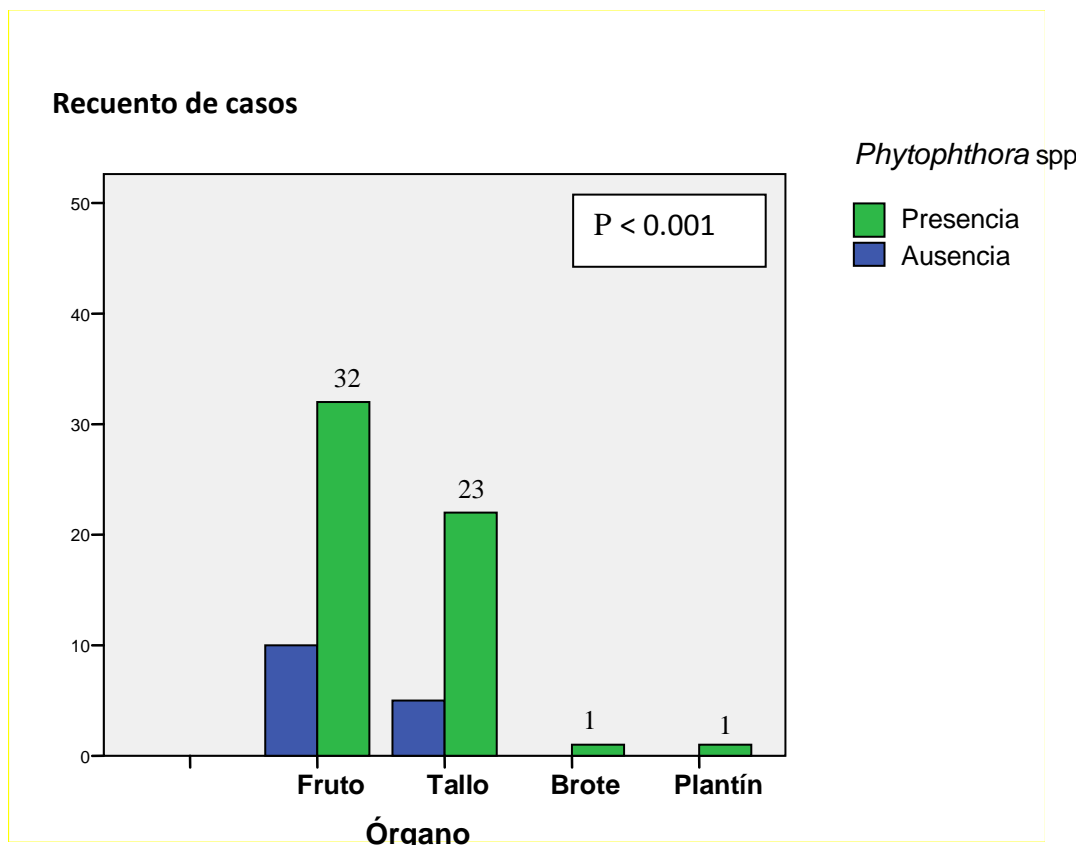
Cuando se analizaron los hospedantes muestreados, en el cultivo de zapallito el recuento de casos con presencia de *Phytophthora* spp. fue ampliamente superior al de ausencia. En la berenjena y el pimiento los recuentos fueron similares, mientras que en el tomate se observaron más casos de ausencia que de presencia de *Phytophthora* spp. (Fig. 15). La asociación fue significativa (Chi-cuadrado = 12,2;  $p < 0,01$ ; y el nivel de asociación = 0,33) (Anexo 3).

### Recuento de casos



**Fig. 15.** Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por hospedante

En cuanto a los registros de presencia o ausencia de *Phytophthora* spp. y su asociación con los órganos afectados, el mayor recuento de casos con presencia se registró para el fruto, seguido por el tallo, el brote y el plantín; si bien, los dos últimos órganos constituyeron casos aislados en el presente estudio (Fig. 16). La asociación fue significativa (Chi- cuadrado = 65,2;  $p < 0,01$  y el nivel de asociación = 0,76;  $p < 0,01$ ) (Anexo 3).



**Fig. 16.** Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por órgano afectado

#### IV.3.2. Síntomas asociados con *Phytophthora* spp.

Los síntomas producidos por *Phytophthora* spp. se expresaron, mayoritariamente, de modo simultáneo a partir del momento en que los cultivos alcanzaron la etapa reproductiva, la que se extendió desde enero a abril. A partir de ese último mes las plantas iniciaron su senescencia, como consecuencia de las primeras heladas.

Hubo presencia de síntomas característicos en todos los hospedantes de interés más un caso en un cultivo de zucchini.

##### **Zapallito**

En este hospedante solo hubo presencia de *P. capsici*, por lo que los síntomas se asociaron a esta especie, que según la bibliografía es el patógeno principal (Zitter *et al.*, 2004; Koike, *et al.*, 2007).



✓ **Tallo**

Las lesiones fueron aguanosas, primero verde oscuro y luego castaño claro; involucrando a la corona como a los pecíolos (Fig. 17). Las plantas se encontraron marchitas y senescieron rápidamente (Fig. 18). Se observó presencia de micelio externo (moho) blanquecino sobre las zonas afectadas.



**Fig. 17.** Marchitamiento de plantas de zapallito causado por *P. capsici*, en un estadio inicial de la enfermedad y podredumbre de pecíolos



**Fig. 18.** Lote con marchitamiento y muerte de plantas de zapallito causado por *P. capsici*



✓ **Fruto**

Las lesiones comenzaron, con frecuencia, en la porción del fruto en contacto con el suelo. Se trató de manchas aguanosas, verde oscuro, de 3 cm diám., aproximadamente, las que rápidamente fueron cubiertas por un micelio externo (moho) grisáceo y abarcaron todo el órgano (Fig. 19).



**Fig. 19.** Fruto de zapallito con mancha aguanosa causada por *P. capsici*

## **Zucchini**

En este hospedante solo hubo presencia de *P. capsici*, al igual que en el zapallito, por lo que los síntomas se asociaron a esta especie, que según la bibliografía es el patógeno principal que afecta al cultivo (Zitter *et al.*, 2004; Koike, *et al.*, 2007).

✓ **Fruto**

Los más afectados fueron aquellos que estuvieron en contacto con el suelo. Las lesiones fueron aguanosas, verde oscuro hacia los bordes; en general, involucraron la porción distal del fruto, afectando con frecuencia solo la mitad del mismo (Fig. 20).



**Fig. 20.** Fruto de zucchini con mancha aguanosa en la porción proximal del pedúnculo, causada por *P. capsici*

### **Berenjena**

En este hospedante no fue posible asociar los síntomas con las especies de *Phytophthora*, ya que hubo presencia de más de una especie del género: *P. capsici*, *P. nicotianae*, *P. drechsleri* y *P. cryptogea*. Las mismas fueron citadas con anterioridad en este hospedante, junto a otras del género (Erwin & Ribeiro; Gevens *et al.*, 2008).

#### ✓ **Tallo:**

Las lesiones se presentaron en tres ubicaciones: en la corona, en la porción media del tallo y en sus ramificaciones, y en los brotes.

*Corona:* esta expresión de la enfermedad fue poco frecuente. Las plantas afectadas se individualizaron en el campo porque estuvieron marchitas y cuando la enfermedad progresó las plantas murieron (Fig. 21).



**Fig. 21.** Marchitamiento de plantas de berenjena afectadas en la corona por *Phytophthora* spp.

Se trató de una pudrición húmeda, de un color castaño más oscuro que el correspondiente a la corteza. En los casos donde el suelo estuvo húmedo se observó además, la presencia de micelio externo típico de *Phytophthora* (Fig. 22).



**Fig. 22.** Podredumbre de corona de berenjena causada por *Phytophthora* spp.

*Porción media del tallo y sus ramificaciones:* estas lesiones fueron más frecuentes que las de corona de brotes. Se localizaron a diferentes alturas, presentándose en general más de una por planta. Se trató de manchas necróticas, castaño oscuro, con bordes definidos. El margen de la lesión fue definido y con frecuencia tomó la forma de una V unilateral (Fig. 23).

Las partes afectadas del tallo causaron el marchitamiento y posteriormente la muerte de las porciones superiores (Fig. 24).



**Fig. 23.** Mancha necrótica en tallo de berenjena causada por *Phytophthora* spp.





**Fig. 24.** Marchitamiento de berenjena causado por *Phytophthora* spp.

*Brotes*: esporádicamente y especialmente hacia el final del ciclo del cultivo hubo presencia de brotes marchitos con una necrosis de la parte distal, castaño oscuro, y posterior marchitamiento de las hojas (Fig. 25).



**Fig. 25.** Brotes marchitos por *P. capsici*

✓ **Fruto**

Las lesiones consistieron en una podredumbre húmeda, de gran tamaño, con un patrón irregular de avance, castaño claro uniforme (Fig. 26). Con frecuencia se observó más de una lesión por órgano. Cuando la infección comenzó en la zona del pedúnculo, el cáliz o en la zona proximal del fruto, éste se desprendió como consecuencia de la podredumbre (Fig. 26). En algunas lesiones hubo presencia de moho blanco grisáceo (Fig. 27). Cuando la podredumbre involucró a todo el fruto, éstos permanecieron adheridos a la planta y finalmente se momificaron (Fig. 28).

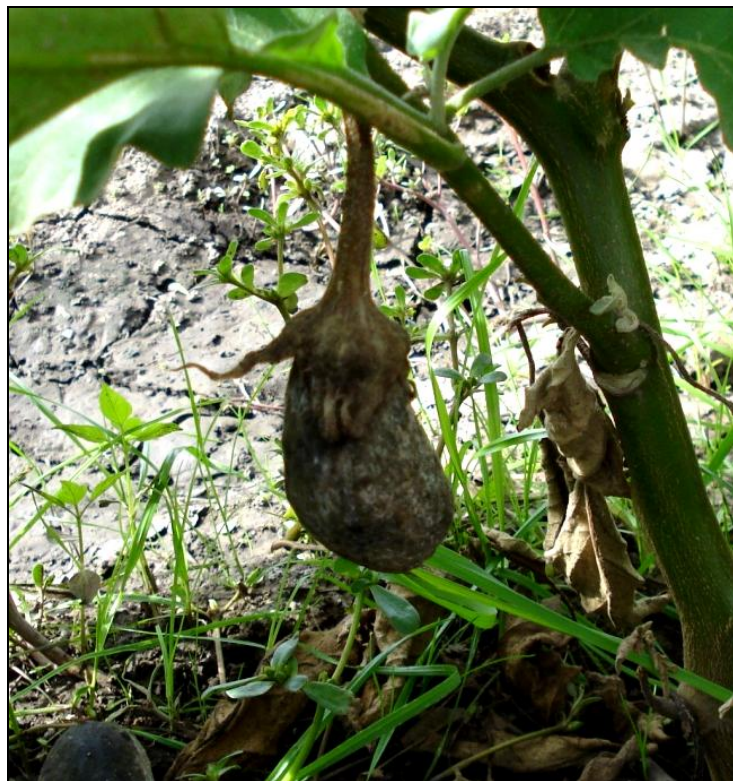


**Fig. 26.** Podredumbre húmeda de berenjena causada por *Phytophthora* spp.





**Fig. 27.** Lesiones con presencia de micelio externo causadas por *Phytophthora* spp. en berenjena



**Fig. 28.** Fruto de berenjena afectado por *Phytophthora* spp. y momificado

## **Tomate**

En este hospedante, al igual que en el caso de la berenjena, no fue posible asociar los síntomas con las especies de *Phytophthora*, ya que hubo presencia de *P. capsici* y de *P. nicotianae*. Estas especies están citadas en la bibliografía como agentes causales de podredumbres en frutos y raíces, pero además se mencionan a: *P. drechsleri*, *P. cryptogea* y *P. infestans* (Jones *et al.*, 1991; Koike *et al.*, 2007).

### ✓ **Tallo**

Se presentaron una o más manchas necróticas en distintas porciones del tallo, de 5 – 10 cm long., con la posterior muerte de la parte superior. Las lesiones fueron castañas, con bordes irregulares (Fig. 29). En algunos casos hubo presencia de micelio externo sobre las lesiones (Fig. 30).





**Fig. 29.** Lesiones en tallo de tomate causadas por *Phytophthora* spp.





**Fig. 30.** Lesión en tallo de tomate causada por *Phytophthora* spp., con presencia de moho blanco

✓ **Fruto**

Las lesiones adquirieron la forma de círculos concéntricos con alternancia de tonalidades de castaño. Éstas ocurrieron en cualquier estado de madurez del fruto y alcanzaron a involucrar un 50 % o más de la superficie del fruto (Fig. 31 y 32).

En unos pocos casos se encontraron frutos con manchas netas castaño oscuro, hundidas, con bordes irregulares (Fig. 33). En ningún caso se observó presencia de micelio externo, con aspecto de moho.



**Fig. 31.** Fruto inmaduro de tomate con lesión causada por *Phytophthora* spp.



**Fig. 32.** Fruto maduro de tomate con lesión debida a *Phytophthora* spp.



**Fig. 33.** Podredumbre de frutos de tomate causada por *Phytophthora* spp.

✓ **Plantín**

Se observó la presencia de plantines marchitos. Los mismos presentaron una lesión aguanosa al nivel del cuello.

**Pimiento**

En este hospedante, al igual que en los dos que lo preceden, se determinó *a posteriori* la presencia de más de una especie de *Phytophthora*: *P. capsici* y *P. drechsleri*, por lo que no fue posible asociar los síntomas con las especies. Mientras que, según la bibliografía, los agentes causales de las podredumbres en pimiento son *P. capsici* y *P. nicotianae* (Pernezny *et al.*, 2003; Koike *et al.*, 2007).

✓ **Tallo**

Hubo una o más lesiones necróticas por planta, castaño oscuro, con bordes irregulares, que con frecuencia causaron la muerte de las porciones superiores del tallo (Fig. 34).





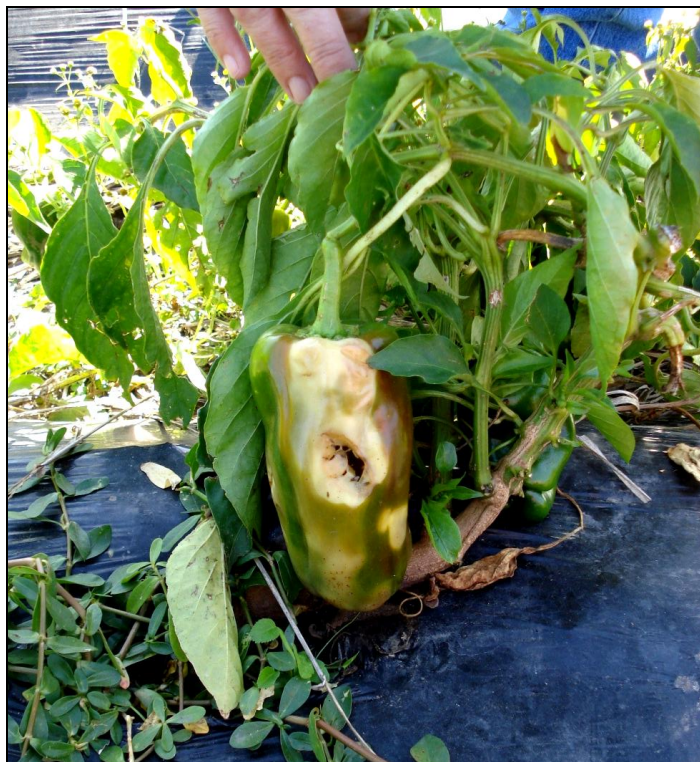
**Fig. 34.** Lesiones en tallos de pimiento causadas por *Phytophthora* spp.

✓ **Fruto**

Las lesiones fueron aguanosas, castañas, con bordes irregulares, de gran tamaño (Fig. 35). En algunos casos, las partes infectadas del fruto se tornaron secas y hundidas (Fig. 36). En las semillas se observó la presencia de micelio externo blanco, con aspecto de moho.



**Fig. 35.** Lesiones en frutos de pimiento causadas por *Phytophthora* spp.



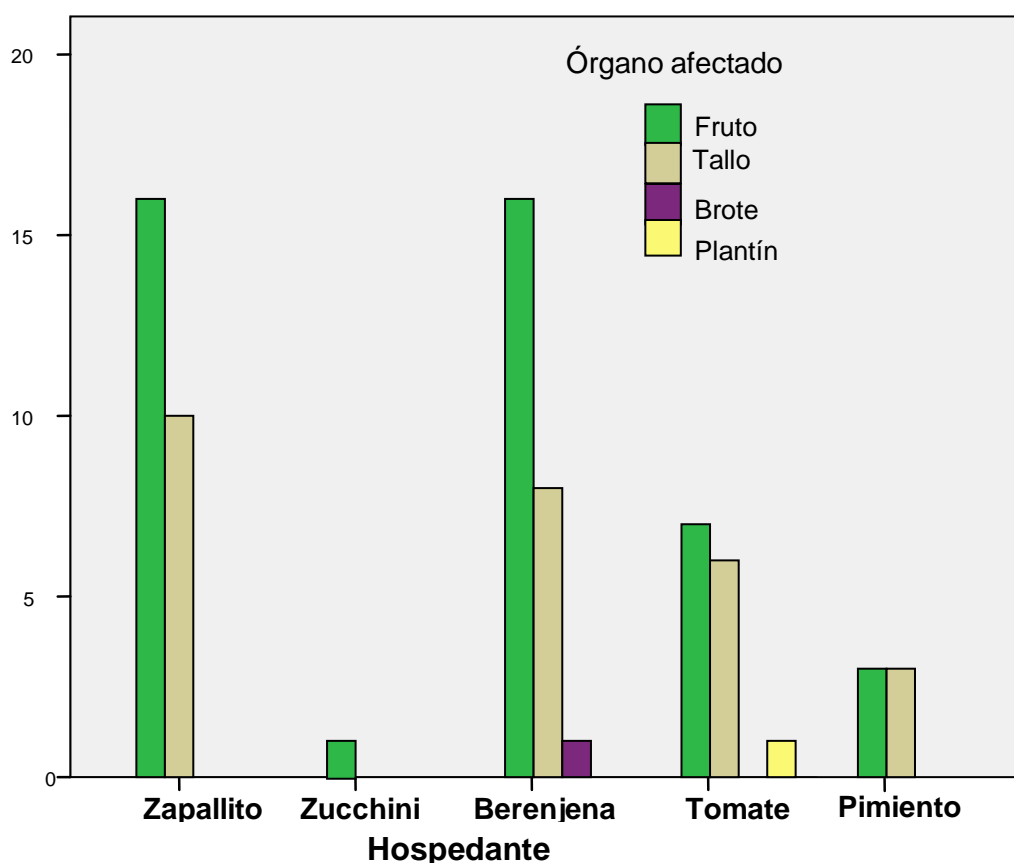
**Fig. 36.** Frutos de pimiento con podredumbre causada por *Phytophthora* spp.

Si bien se determinó la presencia de síntomas causados por las especies de *Phytophthora* spp. en los distintos órganos aéreos de la planta, se observaron algunas diferencias en cuanto a la proporción de órganos con presencia de síntomas por hospedante.

En todos los hospedantes, con excepción del pimiento, el síntoma primario fue la podredumbre de frutos, siguiendo en importancia las lesiones en los tallos. En el caso de la berenjena se observaron además síntomas en los brotes de la planta, los que fueron muestreados en la quinta de un productor de la localidad de Gral. Rodríguez. En el tomate se registró el marchitamiento de plantines, en la quinta de un productor de la localidad de Exaltación de la Cruz.

Tanto los síntomas en plantines como en brotes, fueron las excepciones (Fig. 37).

**Recuento de casos**



**Fig. 37.** Síntomas causados por *Phytophthora* spp. por órgano para cada hospedante



#### IV.4. Determinación de la prevalencia del tizón causado por *Phytophthora* spp., en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas. Año 2010 y 2011

Cuando se analizó la prevalencia de *Phytophthora* spp. en las tres localidades de muestreo, durante los dos años de estudio, se observó para todos los hospedantes (con excepción de la berenjena) un incremento del 2010 al 2011. Se destaca que el número de muestras obtenidas de ese hospedante durante el segundo año de muestreo se redujo en mayor proporción (50 %) que para los restantes (en torno al 30 %). En el caso del zapallito *versus* los demás hospedantes los niveles de prevalencia fueron superiores en los dos años de muestreo y próximos al 50 % (Tabla 3 y Fig. 38).

Las diferencias en el número de lotes muestreados por hospedante entre el 2010 y el 2011 se debió al dinamismo de los productores, como consecuencia del régimen de tenencia de la tierra (contratos de corto plazo), y a la elección del productor de realizar tales o cuales hortalizas. Sin embargo, hubo homogeneidad entre los dos años de muestreo, en cuanto al tamaño muestral de cada hospedante por separado; no se presentaron diferencias significativas para el zapallito ( $p = 0,398$ ), la berenjena ( $p = 0,234$ ), el tomate ( $p = 0,817$ ) y el pimiento ( $p = 0,422$ ) (Anexo 4). Por eso se asumió, que la diferencia en el tamaño muestral no afectó los resultados de prevalencia obtenidos.



**Tabla 3.** Prevalencia por hospedante para los dos años de muestreo (2010 - 2011)

Año				Presencia		Total
				0	1	0
2010	Hospedante	Zapallito	Recuento	7	16	23
			% de Hospedante	30,4%	69,6%	100,0%
			% de Presencia	21,2%	45,7%	33,8%
			% del total	10,3%	23,5%	33,8%
		Berenjena	Recuento	10	13	23
			% de Hospedante	43,5%	56,5%	100,0%
			% de Presencia	30,3%	37,1%	33,8%
			% del total	14,7%	19,1%	33,8%
		Tomate	Recuento	13	4	17
			% de Hospedante	76,5%	23,5%	100,0%
			% de Presencia	39,4%	11,4%	25,0%
			% del total	19,1%	5,9%	25,0%
		Pimiento	Recuento	3	2	5
			% de Hospedante	60,0%	40,0%	100,0%
			% de Presencia	9,1%	5,7%	7,4%
			% del total	4,4%	2,9%	7,4%
	Total		Recuento	33	35	68
			% de Hospedante	48,5%	51,5%	100,0%
			% de Presencia	100,0%	100,0%	100,0%
			% del total	48,5%	51,5%	100,0%
2011	Hospedante	Zapallito	Recuento	6	10	16
			% de Hospedante	37,5%	62,5%	100,0%
			% de Presencia	25,0%	50,0%	36,4%
			% del total	13,6%	22,7%	36,4%
		Berenjena	Recuento	8	4	12
			% de Hospedante	66,7%	33,3%	100,0%
			% de Presencia	33,3%	20,0%	27,3%
			% del total	18,2%	9,1%	27,3%
		Tomate	Recuento	9	3	12
			% de Hospedante	75,0%	25,0%	100,0%
			% de Presencia	37,5%	15,0%	27,3%
			% del total	20,5%	6,8%	27,3%
		Pimiento	Recuento	1	3	4
			% de Hospedante	25,0%	75,0%	100,0%
			% de Presencia	4,2%	15,0%	9,1%
			% del total	2,3%	6,8%	9,1%
	Total		Recuento	24	20	44
			% de Hospedante	54,5%	45,5%	100,0%
			% de Presencia	100,0%	100,0%	100,0%
			% del total	54,5%	45,5%	100,0%

#### IV.5. Identificación de los aislamientos de especies de *Phytophthora*

##### IV.5.1. Obtención de los aislamientos a partir del material vegetal

Se obtuvo un total de 311 aislamientos a partir de muestras de frutos, tallos, brotes y plantines (Tabla 4). Los mismos fueron identificados según la localidad, el hospedante, el productor y el órgano afectado.

**Tabla 4.** Lista de aislamientos obtenidos

Año	Localidad	Hospedante	Productor	Órgano	N° Aislamientos
2010	Luján	Zapallito	Choque 1	fruto	5
2010	Luján	Zapallito	Choque 2	fruto y tallo	11
2010	Luján	Zapallito	Choque 3	fruto	12
2010	Luján	Zapallito	Oliveira	tallo	4
2010	Luján	Zapallito	Menacho	tallo y fruto	4
2010	Gral. Rodríguez	Zapallito	Villafuerte A.	tallo	2
2010	Gral. Rodríguez	Zapallito	Anagua	fruto	2
2010	Gral. Rodríguez	Zapallito	Velazquez E.	fruto y tallo	9
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Achura 1	tallo	1
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Mamani J.	tallo	6
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Jo	tallo	9
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Achura 2	fruto	7
2010	Ex. de La Cruz	Zapallito	Villafuerte D.	fruto	5
2010	Luján	Berenjena	Choque 1	tallo y fruto	4
2010	Luján	Berenjena	Choque 2	fruto y tallo	6
2010	Luján	Berenjena	Callaguara	tallo y fruto	3
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Uño 1	tallo	5
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Anagua	fruto	5
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Velazquez E.	fruto	4
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Uño 2	tallo y fruto	9
2010	Gral. Rodríguez	Berenjena	Velazquez F.	fruto	8
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Achura 1	fruto	3
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Apasa 1	fruto	6
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Mamani M.	fruto	5
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Apasa 2	fruto	1
2010	Ex. de La Cruz	Berenjena	Villafuerte D.	fruto y tallo	5
2010	Gral. Rodríguez	Tomate	Uño 1	tallo	8
2010	Gral. Rodríguez	Tomate	Uño 2	tallo y fruto	4
2010	Gral. Rodríguez	Tomate	Velazquez F.	tallo	3
2010	Ex. de La Cruz	Tomate	Jo 1	tallo y fruto	5

<b>2010</b>	Ex. de La Cruz	Tomate	Apasa 1	tallo	5
<b>2010</b>	Ex. de La Cruz	Pimiento	Achura 2	fruto	9
<b>2010</b>	Ex. de La Cruz	Pimiento	Apasa 1	tallo	6
<b>2010</b>	Ex. de La Cruz	Pimiento	Villafuerte D.	fruto y tallo	5
<b>2011</b>	Luján	Zapallito	Oliveira	fruto	10
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Zapallito	Velazquez A.	fruto	2
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Zapallito	Uño 1	fruto	4
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Zapallito	Anagua	fruto	5
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Zapallito	Uño Zucch.	fruto	6
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Zapallito	Tacistro	fruto	9
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Zapallito	Apasa 1	tallo y fruto	5
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Zapallito	Achura 1	fruto y tallo	4
<b>2011</b>	Luján	Berenjena	Tacistro	fruto	4
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Berenjena	Aguilar	tallo, fruto y brote	2
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Berenjena	Velazquez E.	fruto	10
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Berenjena	Apasa 2	fruto	10
<b>2011</b>	Luján	Tomate	Jo 1	fruto	12
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Tomate	Velazquez Ro.	fruto y tallo	8
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Tomate	Anagua	fruto	4
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Tomate	Achura 2	fruto	4
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Tomate	Achura 2	fruto	5
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Tomate	Villafuerte S.	fruto	3
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Tomate	Apasa 1	plantín	2
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Pimiento	Velazquez Ro.	tallo y fruto	6
<b>2011</b>	Gral. Rodríguez	Pimiento	Beatr Chile	fruto	7
<b>2011</b>	Ex. de La Cruz	Pimiento	Apasa 1	tallo	3

Para la identificación de los aislamientos se estableció una nomenclatura que provee información sobre el origen de los mismos; el hospedante del cual se obtuvo, el productor y el órgano de la planta que fue afectado. El hospedante se indica en primer lugar, con su inicial (Z: zapallito, B: berenjena, T: tomate y P: pimiento). El productor se indica a continuación, con las primeras letras que componen su apellido y el órgano en último lugar, con su inicial (T: tallo, F: fruto, Br: brote y Pl: plantín) y el número correspondiente al número de órganos muestreados de la planta, cuando se presentó en más de un órgano por planta.

#### IV.5.2. Comparación de los medios de cultivo

Los cuatro aislamientos analizados para comparar los medios de cultivo fueron: T VILL F21, B AN Br2, Z VEL F1 y Zuch F grande. El primero correspondió a *P. nicotianae* y provino de tomate; los restantes tres aislamientos correspondieron a *P. capsici* y provinieron de berenjena, zapallito y zucchini, respectivamente.

El crecimiento de las colonias de estos aislamientos en medio AV8 presentó diferencias significativas con respecto al AMT y al APD ( $p < 0,05$ ) por un mayor crecimiento de las colonias. Por otro lado, cuando se comparó el crecimiento en el medio AMT con respecto al medio APD se observó que no hubo diferencias significativas ( $p = 0,996$ , con el test de Tuckey) (Tabla 5).

La muestra de aislamientos analizada, *a priori* presentó diferencias significativas con respecto al crecimiento de los mismos ( $p < 0,05$ ) (Tabla 6), pero esta diferencia no fue reflejada cuando se analizó con la prueba post hoc de Tamhane que controla la heterogeneidad de la varianza (Tabla 7). De este modo, se verificó que no existieron diferencias significativas entre los aislamientos, por lo que se asumió que no hay interacción entre los aislamientos y los medios de cultivo analizados.

En el medio AHM la lectura del crecimiento no se pudo realizar con precisión debido a la ausencia de contraste entre el tono del medio de cultivo y el del micelio de los aislamientos, motivo por el cual no se incluyó en el análisis.

**Tabla 5.** Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Crecimiento

	(I) Medio	(J) Medio	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significancia	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
DHS de Tukey	V8	MT	1,869(*)	,3701	,000	,964	2,773
		APD	1,900(*)	,3701	,000	,995	2,805
	MT	V8	-1,869(*)	,3701	,000	-2,773	-,964
		APD	,031	,3701	,996	-,873	,936
	APD	V8	-1,900(*)	,3701	,000	-2,805	-,995

		MT	-,031	,3701	,996	-,936	,873
Bonferroni	V8	MT	1,869(*)	,3701	,000	,939	2,798
		APD	1,900(*)	,3701	,000	,971	2,829
	MT	V8	-1,869(*)	,3701	,000	-2,798	-,939
		APD	,031	,3701	1,000	-,898	,961
	APD	V8	-1,900(*)	,3701	,000	-2,829	-,971
		MT	-,031	,3701	1,000	-,961	,898
Tamhane	V8	MT	1,869(*)	,4386	,001	,752	2,985
		APD	1,900(*)	,4907	,002	,659	3,141
	MT	V8	-1,869(*)	,4386	,001	-2,985	-,752
		APD	,031	,4189	1,000	-1,033	1,095
	APD	V8	-1,900(*)	,4907	,002	-3,141	-,659
		MT	-,031	,4189	1,000	-1,095	1,033

Basado en las medias observadas.

\* La diferencia de medias es significativa al nivel ,05.

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas

Variable dependiente: Crecimiento

F	gl1	gl2	Significancia
32,422	11	36	,000

0,996 largo de todos los grupos.

**Tabla 6.** Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Crecimiento

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significancia	Eta al cuadrado parcial
Modelo corregido	71,471(a)	11	6,497	5,929	,000	,644
Intersección	672,752	1	672,752	613,957	,000	,945
Aislamiento	18,252	3	6,084	5,552	,003	,316
Medio	37,884	2	18,942	17,286	,000	,490
Aislamiento * Medio	15,335	6	2,556	2,332	,053	,280
Error	39,448	36	1,096			
Total	783,670	48				
Total corregida	110,918	47				

R cuadrado = ,644 (R cuadrado corregida = ,536)

**Tabla 7.** Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Crecimiento

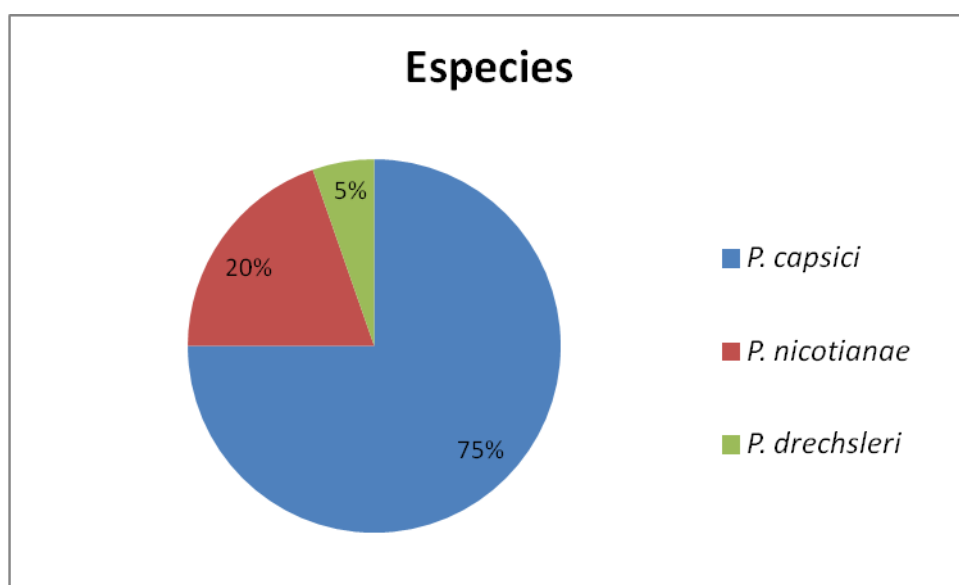
	(I) Aislamiento	(J) Aislamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significancia	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
DHS de Tukey	T VILL F21	B AN Br2	-,933	,4273	,147	-2,084	,218
		Z VEL F1	-,642	,4273	,447	-1,793	,509
		ZUCH Fgrande	,667	,4273	,414	-,484	1,818
	B AN Br2	T VILL F21	,933	,4273	,147	-,218	2,084
		Z VEL F1	,292	,4273	,903	-,859	1,443
		ZUCH Fgrande	1,600(*)	,4273	,003	,449	2,751
	Z VEL F1	T VILL F21	,642	,4273	,447	-,509	1,793
		B AN Br2	-,292	,4273	,903	-1,443	,859
		ZUCH Fgrande	1,308(*)	,4273	,021	,157	2,459
	ZUCH Fgrande	T VILL F21	-,667	,4273	,414	-1,818	,484
		B AN Br2	-1,600(*)	,4273	,003	-2,751	-,449
		Z VEL F1	-1,308(*)	,4273	,021	-2,459	-,157
Bonferroni	T VILL F21	B AN Br2	-,933	,4273	,213	-2,126	,260
		Z VEL F1	-,642	,4273	,852	-1,835	,551
		ZUCH Fgrande	,667	,4273	,765	-,526	1,860
	B AN Br2	T VILL F21	,933	,4273	,213	-,260	2,126
		Z VEL F1	,292	,4273	1,000	-,901	1,485
		ZUCH Fgrande	1,600(*)	,4273	,004	,407	2,793
	Z VEL F1	T VILL F21	,642	,4273	,852	-,551	1,835
		B AN Br2	-,292	,4273	1,000	-1,485	,901
		ZUCH Fgrande	1,308(*)	,4273	,025	,115	2,501
	ZUCH Fgrande	T VILL F21	-,667	,4273	,765	-1,860	,526
		B AN Br2	-1,600(*)	,4273	,004	-2,793	-,407
		Z VEL F1	-1,308(*)	,4273	,025	-2,501	-,115
Tamhane	T VILL F21	B AN Br2	-,933	,6173	,609	-2,718	,851
		Z VEL F1	-,642	,6122	,888	-2,412	1,128
		ZUCH Fgrande	,667	,5947	,854	-1,056	2,389
	B AN Br2	T VILL F21	,933	,6173	,609	-,851	2,718
		Z VEL F1	,292	,5902	,997	-1,414	1,997
		ZUCH Fgrande	1,600	,5721	,062	-,054	3,254
	Z VEL F1	T VILL F21	,642	,6122	,888	-1,128	2,412

		B AN Br2	-,292	,5902	,997	-1,997	1,414
		ZUCH Fgrande	1,308	,5665	,171	-,329	2,946
	ZUCH Fgrande	T VILL F21	-,667	,5947	,854	-2,389	1,056
		B AN Br2	-1,600	,5721	,062	-3,254	,054
		Z VEL F1	-1,308	,5665	,171	-2,946	,329

#### IV.5.3. Identificación *P. capsici* y de otras especies de *Phytophthora* encontradas

##### IV.5.3.1. Diagnóstico

Se utilizaron las características morfológicas de los zoosporangios para identificar una muestra seleccionada al azar de los aislamientos obtenidos durante 2010 – 2011. Ésta fue conformada por 56 aislamientos, dentro de la cual se identificaron tres especies heterotáticas; 42 aislamientos fueron identificados como *P. capsici* (75 %), seguidos por 11 de *P. nicotianae* (20 %) y 3 de *P. drechsleri* (5 %) (Fig. 38).



**Fig. 38.** Porcentaje de especies de *Phytophthora* identificadas

Las observaciones fueron realizadas en AV8 y coinciden con los caracteres presentados por Erwin & Ribeiro (1996), Frezzi (1950), Stamps *et al.*, (1990) y Waterhouse (1963). Sobre esta base se establecieron las características cuantitativas y cualitativas clave que permitieron diferenciarlas, tal como se detalla en la siguiente clave dicotómica simplificada, indicando el grupo al cual pertenecen:

- a. Zoosporangios papilados y ramificación simpodial de los zoosporangióforos
  - i. Caducos. Raramente, presencia de clamidosporas: con un largo del pedicelo > 20  $\mu\text{m}$ -----***P. capsici***  
(grupo II de Waterhouse)
  - ii. Persistentes. Presencia de clamidosporas-----***P. nicotianae***  
(grupo II de Waterhouse)
- b. Zoosporangios no papilados. Ovoidales y elipsoidales, sin ramificación o con ramificación laxa de los zoosporangióforos. Buen crecimiento a 35 °C. Presencia de clamidosporas -----***P. drechsleri***  
(grupo VI de Waterhouse)

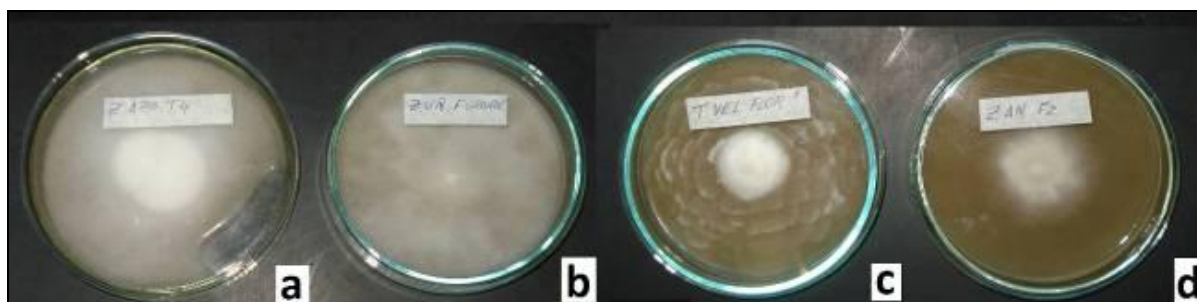
#### IV.5.3.2. Caracterización morfológica

De los 56 aislamientos analizados, 42 correspondieron a ***P. capsici*** y tuvieron las siguientes características cualitativas:

El patrón de crecimiento de las colonias fue variable; estrellado, petaloide, radial.

La mayoría de los aislamientos presentaron un aspecto ralo y en unos pocos casos fue algodonoso (Fig.: 39 a, b, c y d).

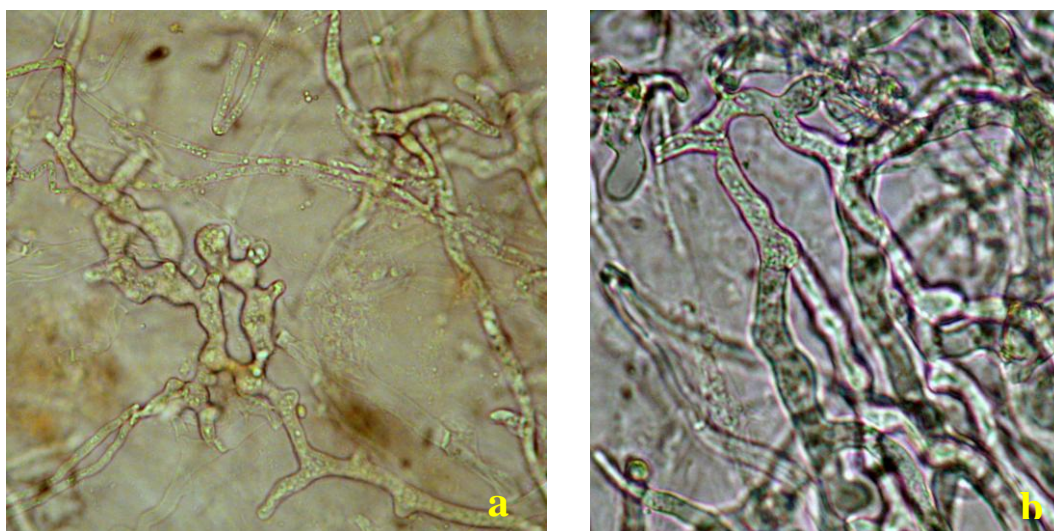




**Fig. 39 a-d.** Patrones de crecimiento de las colonias de especies de *Phytophthora* en AV8

**a:** micelio algodonoso de la colonia de *P. capsici*, (aislamiento Z APA T4); **b:** patrón estrellado de la colonia de *P. capsici* (aislamiento ZUCH UÑ Fgrande); **c:** patrón petaloide de una colonia de *P. nicotianae* (aislamiento T VELFlor F) y **d:** micelio ralo de la colonia de *P. capsici* (aislamiento Z AN F2).

El micelio fue cenocítico, my ramificado y de tipo toruloso. Además se observó la presencia de hinchamientos hifales (Fig. 40 a y b).

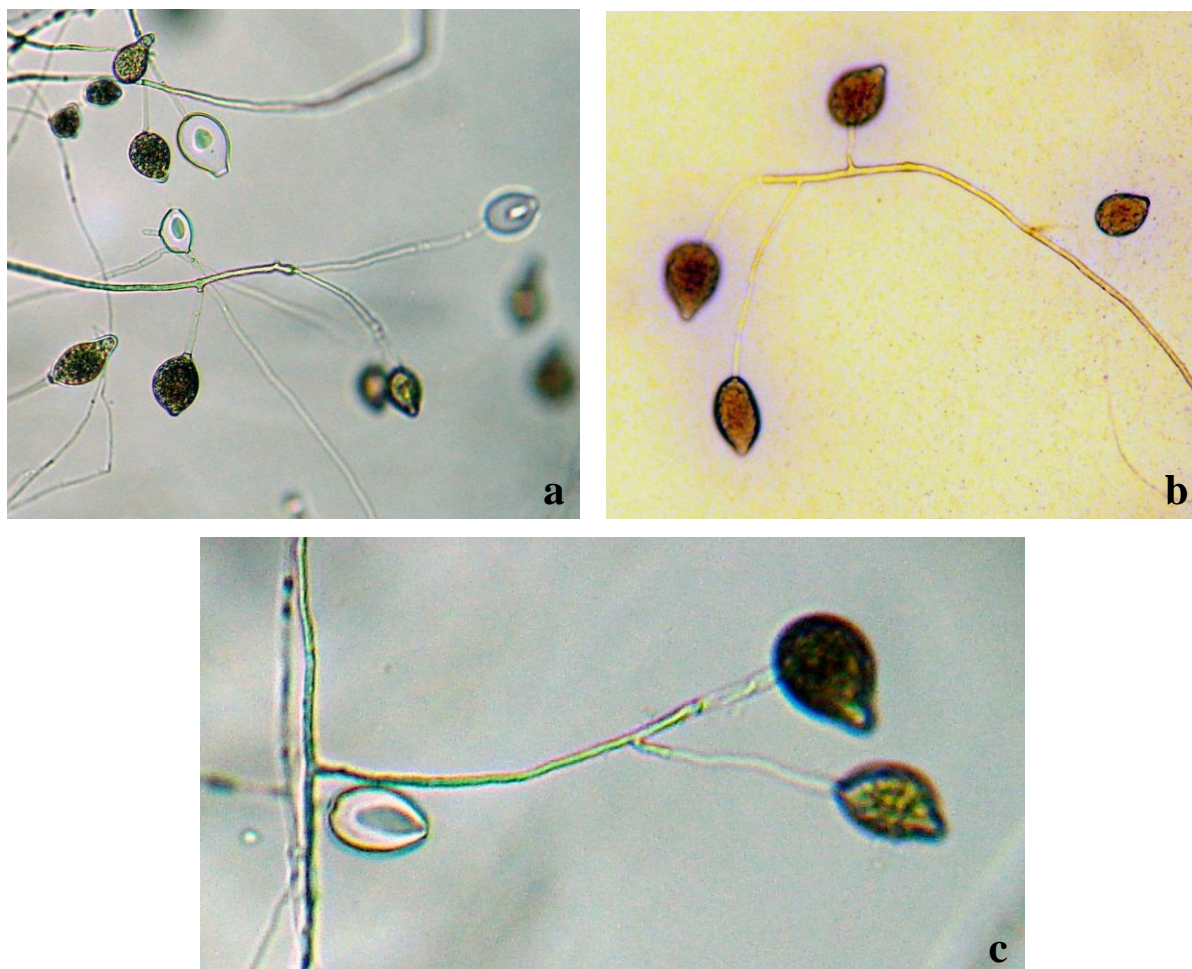


**Fig. 40 a, b.** Micelio toruloso de *P. capsici*

**a:** aislamiento de zapallito; **b:** aislamiento de tomate.

En ninguno de los aislamientos fueron observadas las clamidosporas y tampoco fueron producidos los oogonios en cultivos individuales.

Los zoosporangióforos presentaron ramificación simpodial (Fig. 41 a, b y c), en la mayoría de los aislamientos identificados, y en algunos casos umbeliforme (Fig. 42).



**Fig. 41 a-c.** Ramificación simpodial de los zoosporangióforos de aislamientos de *P. capsici*

**a:** aislamiento proveniente de berenjena (B APA F1.1), **b:** aislamiento de tomate (T VEL RO F2) y **c:** aislamiento proveniente de zapallito (Z ACH T2).

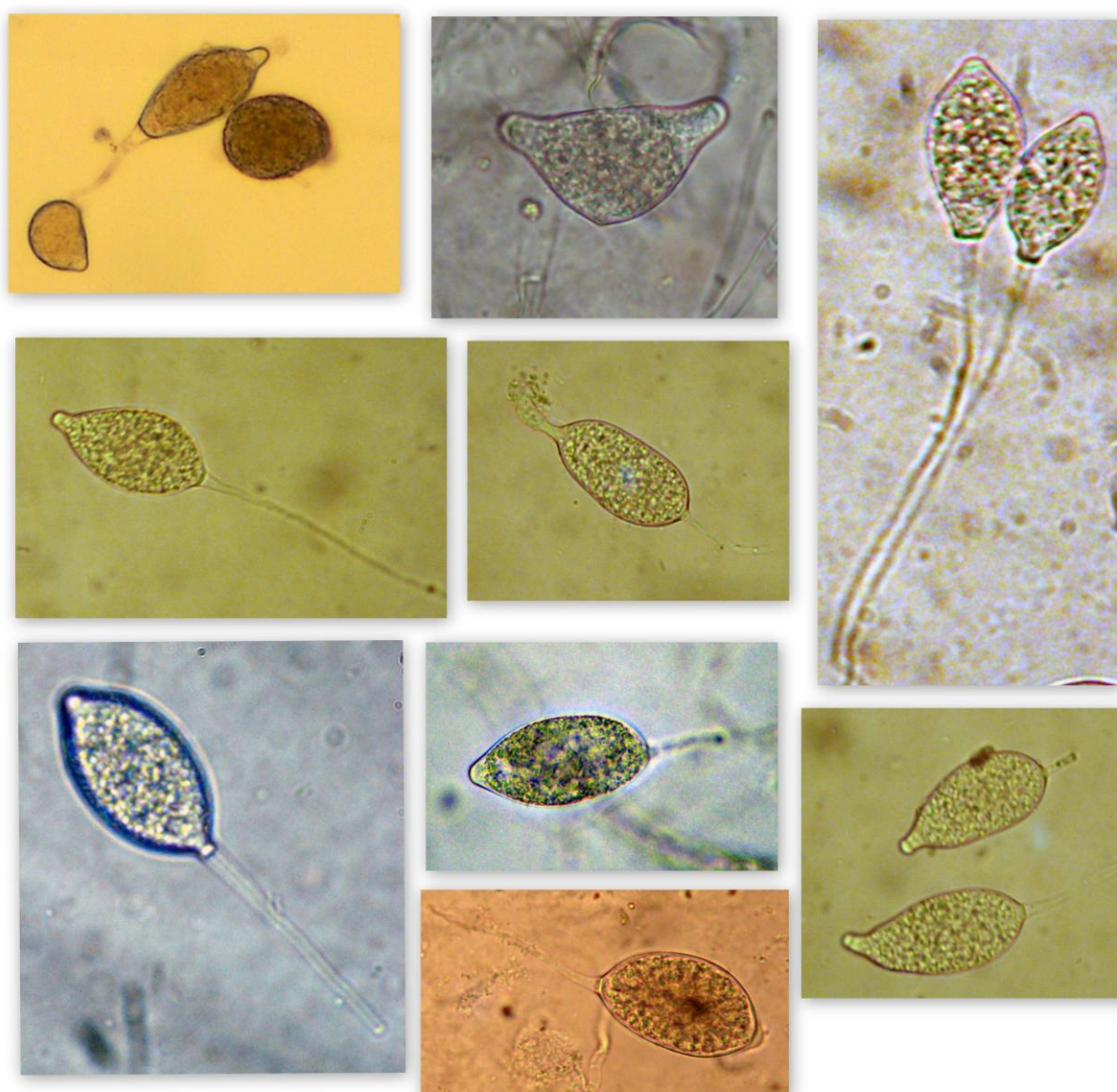


**Fig. 42.** Zoosporangióforo de forma umbeliforme y zoosporangios caducos de *P. capsici* (400x)

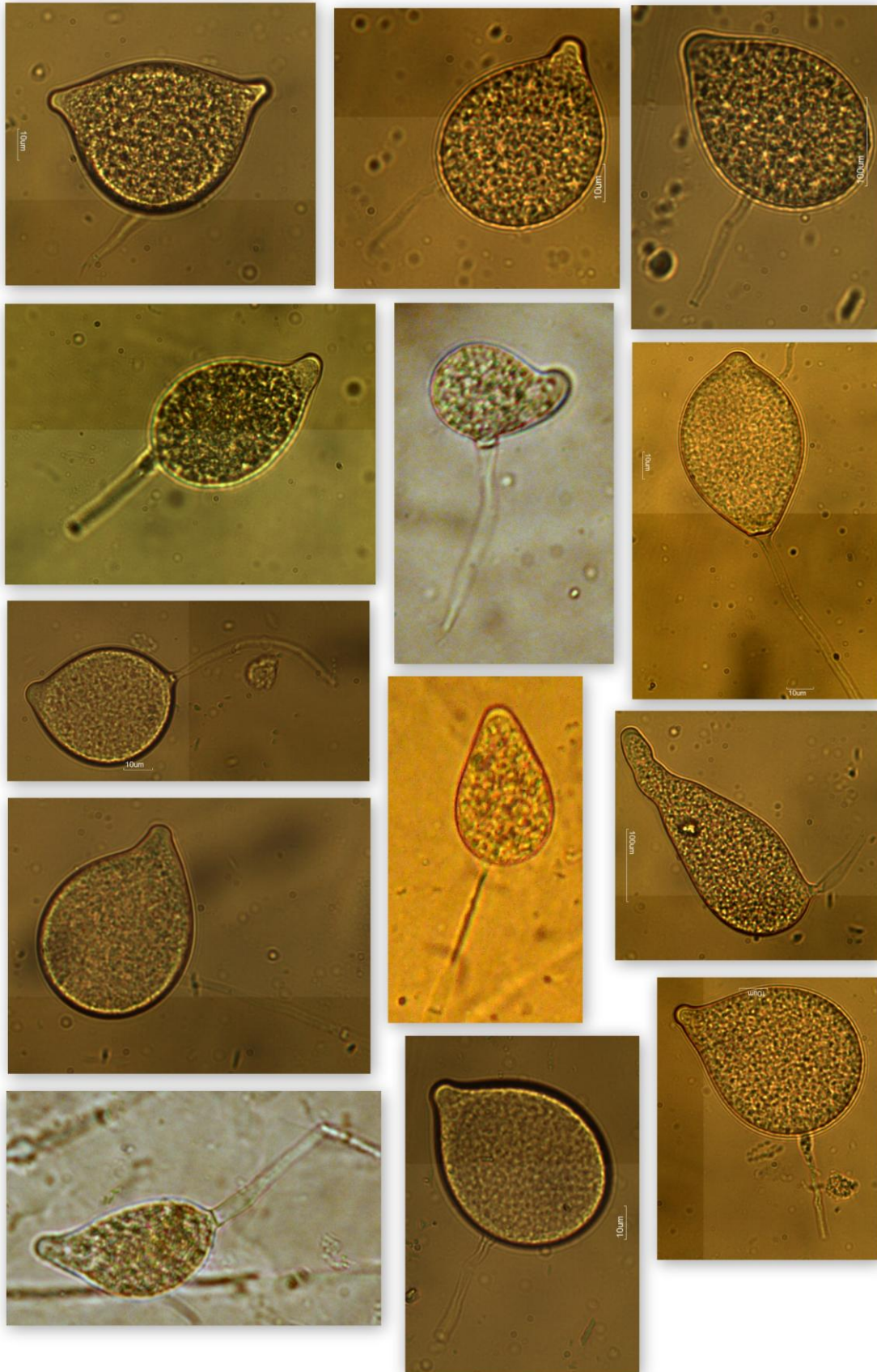
Se evidencia la zona de clivaje del pedicelo (aislamiento Z AN T2.1).



La morfología de los zoosporangios fue muy variable: obpiriforme, limoniforme, ovovoide, ovoide, presentándose en algunos aislamientos zoosporangios bipapilados, tanto en aislamientos provenientes de zapallito (Fig. 43) como de berenjena (Fig. 44). También se observaron zoosporangios deformantes en aislamientos provenientes de pimiento (Fig. 46), tal como fue citado por Frezzi (1950). Sin embargo, se observaron algunas diferencias cuando se analizaron los zoosporangios según el hospedante del cual provinieron; en el caso de los aislamientos de zapallito, tomate y pimiento, la forma predominante fue limoniforme u obpiriforme (Fig. 43, 45 y 46), mientras que en los aislamientos provenientes de berenjena fue obvoide u ovoide (Fig. 44).

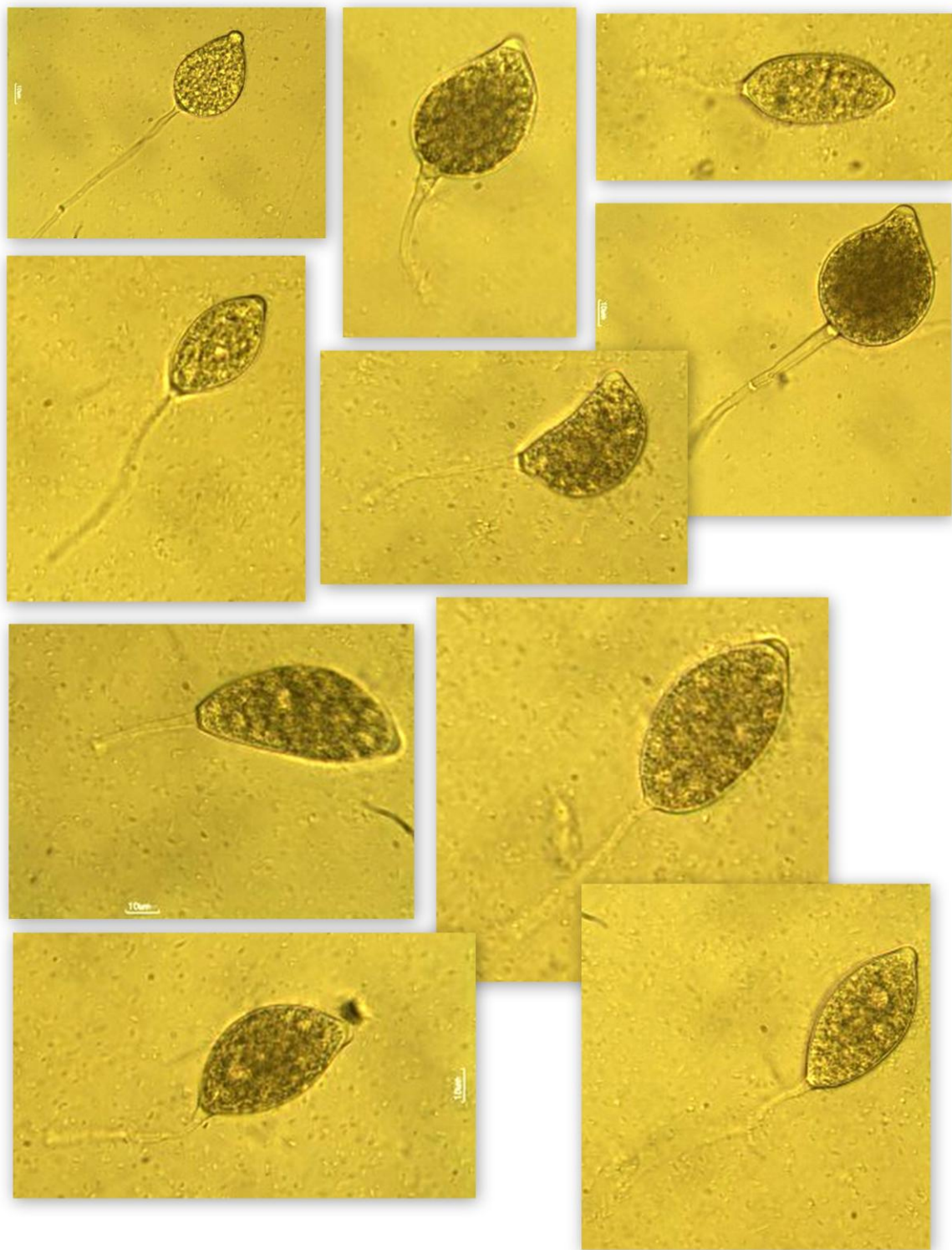


**Fig. 43.** Zoosporangios de *P. capsici* provenientes de aislamientos de zapallito (400x)

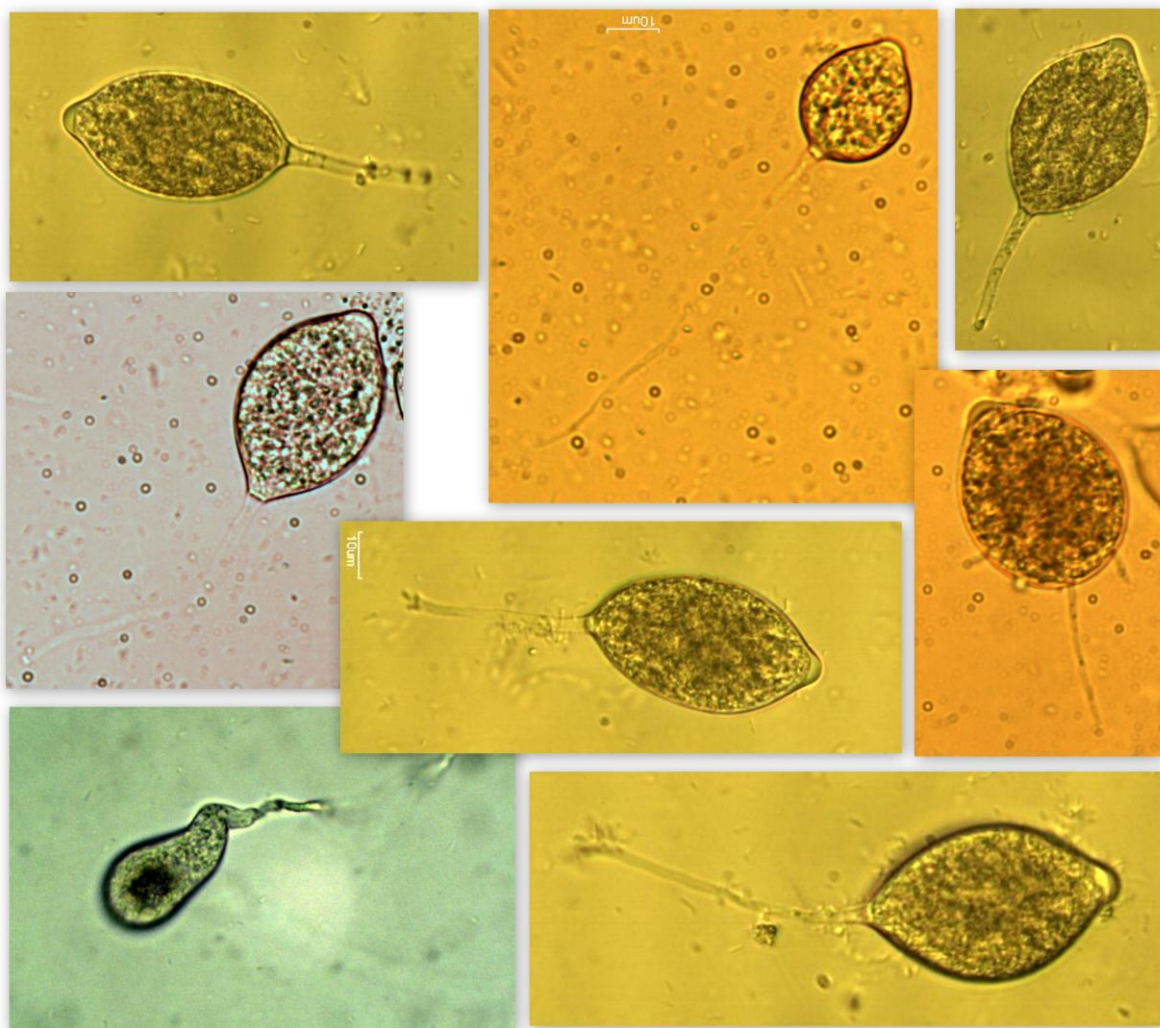


**Fig. 44.** Zoosporangios de *P. capsici* provenientes de aislamientos de berenjena (400x)





**Fig. 45.** Zoosporangios de *P. capsici* provenientes de aislamientos de tomate (400x)



**Fig. 46.** Zoosporangios de *P. capsici* provenientes de aislamientos de pimiento (400x)

En cuanto a las características cuantitativas de los zoosporangios de *P. capsici*, se registraron las siguientes dimensiones: el diámetro de los zoosporangios (DZ) fue de 27 µm en promedio, fluctuando entre 14 µm - 41 µm ( $X =$ ). La longitud (LZ) varió entre 23 µm - 58 µm ( $X = 42$  µm). La relación long. / diám. (L / DZ): 1,1 - 2,0 ( $X = 1,6$ ). La longitud del pedicelo (LP) fue el parámetro más variable; entre 22 µm - 69,7 µm ( $X = 41,7$  µm) (Tabla 8).

**Tabla 8.** Características morfométricas de los zoosporangios de *P. capsici* agrupados por hospedante

Promedios (Prom.) y desvíos estándar (D) de las mediciones: ancho (DZ), largo (LZ) y relación largo / ancho de los zoosporangios (L/DZ); largo del pedicelo (LP) de cada zoosporangio.

Aislamiento	Prom.	D		Prom.	D		Prom.	D		Prom.	D	
	DZ			LZ			L / DZ			LP		
Zapallito												
Z ACH 1 F5	25,4	±	3,5	41,2	±	9,3	1,6	±	0,3	46,7	±	19,8
Z ACH 1 F1	21,8	±	4,4	34,4	±	10,1	1,6	±	0,4	30,9	±	12,4
Z ACH 1 F2	22,7	±	3,4	44,4	±	20,0	2,0	±	1,1	42,4	±	18,8
Z ACH 1 T3	21,0	±	3,0	42,0	±	21,0	2,0	±	1,2	41,0	±	18,0
Z AN F1	25,4	±	4,6	40,0	±	8,9	1,6	±	0,3	41,6	±	20,7
Z AN F2	26,0	±	4,0	40,0	±	10,0	1,5	±	0,3	41,0	±	16,0
Z APA 1 F5	28,1	±	3,8	35,1	±	6,1	1,2	±	0,2	34,2	±	22,9
Z APA 1 T4	33,1	±	6,8	49,8	±	6,2	1,5	±	0,2	64,1	±	21,2
Z APA 1 T5	26,8	±	4,3	43,7	±	13,6	1,6	±	0,4	69,7	±	39,4
Z OL F4	26,6	±	4,0	37,0	±	6,0	1,4	±	0,3	43,7	±	15,7
Z OL T7	29,6	±	5,8	57,6	±	19,3	1,9	±	0,4	39,9	±	29,7
Z OL F1	26,1	±	1,0	42,3	±	5,5	1,6	±	0,4	45,0	±	7,3
Z UÑ F3	25,4	±	4,7	41,5	±	8,3	1,6	±	0,3	45,3	±	28,0
Z UÑ FE	25,0	±	3,0	46,0	±	7,0	1,8	±	0,4	50,0	±	8,0
ZUCH UÑ F6	30,3	±	3,0	47,1	±	4,6	1,6	±	0,2	37,1	±	27,7
ZUCH UÑ F3	31,0	±	5,0	42,0	±	5,0	1,4	±	0,2	39,0	±	21,0
Z VELA F1	25,9	±	4,8	42,5	±	11,5	1,6	±	0,4	54,3	±	21,6
Z VELA F2	25,0	±	2,0	43,0	±	4,0	1,7	±	0,3	52,0	±	25,0
Z MAM J. T3	30,7	±	3,6	47,9	±	8,9	1,6	±	0,2	56,8	±	23,3
Z MEN T5	32,5	±	5,0	52,4	±	1,8	1,6	±	0,3	53,3	±	37,9
Z UÑ F612	17,5	±	2,6	22,9	±	1,9	1,3	±	0,1	26,8	±	10,9
Promedio	26,5	±	3,9	42,5	±	9,0	1,6	±	0,4	45,5	±	21,2
Berenjena												
B AG BR2	22,3	±	7,6	31,2	±	12,0	1,4	±	0,3	26,5	±	14,8
B AG BR4	30,7	±	9,0	41,1	±	9,8	1,3	±	0,4	30,6	±	14,8
B AG F7	33,4	±	6,3	48,9	±	15,2	1,5	±	0,4	41,8	±	21,1
B AG F1	28,1	±	6,2	38,4	±	10,2	1,4	±	0,3	53,5	±	26,6
B AG F2	29,7	±	4,2	41,5	±	8,5	1,4	±	0,3	57,3	±	17,0
B AG F4	29,6	±	5,8	57,8	±	14,4	2,0	±	0,6	54,7	±	23,1
B AG T1	32,4	±	3,6	52,1	±	11,5	1,6	±	0,4	67,3	±	22,3
B UÑ 2 F	28,8	±	9,2	49,4	±	13,4	1,7	±	0,4	31,1	±	17,2
B VELA F3	23,3	±	3,7	39,0	±	11,5	1,7	±	0,4	44,7	±	30,3
B VELA F1	25,1	±	3,3	49,5	±	22,6	2,0	±	1,1	39,7	±	20,0
B CALL	41,0	±	8,0	50,0	±	19,0	1,2	±	0,2	29,0	±	25,0
Promedio	29,5	±	6,1	45,4	±	13,5	1,6	±	0,4	43,3	±	21,1
Tomate												
T VELRO F1	20,2	±	1,4	28,2	±	0,9	1,4	±	0,1	26,4	±	25,2



<b>T VELRO F2</b>	19,9	±	3,1	25,1	±	3,6	1,3	±	0,1	28,5	±	24,4
<b>T VELRO F3</b>	30,4	±	5,2	31,9	±	4,9	1,1	±	0,2	42,4	±	25,6
<b>T VELRO F5</b>	26,3	±	5,4	41,2	±	6,4	1,6	±	0,3	55,4	±	31,0
<b>T ACH F2</b>	32,6	±	4,6	46,0	±	5,7	1,4	±	0,2	29,0	±	15,0
<b>TEVEL RO F4</b>	14,1	±	3,0	25,4	±	4,4	1,8	±	0,3	27,8	±	13,8
<b>T VEL RO F7</b>	20,0	±	1,7	25,3	±	4,0	1,3	±	0,1	22,0	±	18,1
<b>Promedio</b>	<b>23,3</b>	±	<b>3,5</b>	<b>31,9</b>	±	<b>4,3</b>	<b>1,4</b>	±	<b>0,2</b>	<b>33,1</b>	±	<b>21,9</b>
<b>Pimiento</b>												
<b>P APA T1</b>	29,2	±	4,0	56,1	±	13,5	2,0	±	0,6	43,0	±	23,5
<b>P VEL RO T3</b>	29,8	±	2,9	50,7	±	5,3	1,7	±	0,3	41,7	±	23,2
<b>P VILL D T 1</b>	26,9	±	6,3	36,4	±	10,4	1,3	±	0,1	47,7	±	28,6
<b>Promedio</b>	<b>28,6</b>	±	<b>4,4</b>	<b>47,7</b>	±	<b>9,7</b>	<b>1,7</b>	±	<b>0,3</b>	<b>44,1</b>	±	<b>25,1</b>
<b>Prom. Total</b>	<b>27,0</b>	±	<b>4,5</b>	<b>41,9</b>	±	<b>9,1</b>	<b>1,6</b>	±	<b>0,3</b>	<b>41,5</b>	±	<b>22,3</b>

#### Otras especies de *Phytophthora* identificadas:

De los restantes aislamientos analizados, 11 correspondieron a *P. nicotianae*.

El patrón de crecimiento y el aspecto de las colonias presentó las mismas características observadas para los aislamientos de *P. capsici*. También se observó la presencia de hinchamientos hifales (Fig. 47). Las clamidosporas se desarrollaron en todos los aislamientos (Fig. 48). Los oogonios no fueron producidos en cultivos individuales. Se observó la ramificación simpodial de los zoosporangióforos. La morfología predominante de los zoosporangios fue esférica.



**Fig. 47.** Hinchamientos hifales de *P. nicotianae* (aislamiento B APA F1.2)





**Fig. 48.** Zoosporangio y clamidospora de *P. nicotianae* (aislamiento B APA F2.1)

En cuanto a las características cuantitativas de los zoosporangios de *P. nicotianae*, se registraron las siguientes dimensiones:

el DZ tuvo una amplitud que varió entre 25  $\mu\text{m}$  - 39  $\mu\text{m}$  ( $X = 34 \mu\text{m}$ ). La LZ varió entre 28  $\mu\text{m}$  - 45  $\mu\text{m}$  ( $X = 38,2 \mu\text{m}$ ). La relación L / DZ fue de: 1,1 - 1,3 ( $X = 1,2$ ) (Tabla 9).

**Tabla 9.** Características morfométricas de los zoosporangios de *P. nicotianae* agrupados por hospedante

Aislamiento	Prom.	D		Prom.	D		Prom.	D		Prom.	D	
	DZ			LZ			L / DZ			LP		
Berenjena												
B APA F1	33,4	±	2,3	42,3	±	6,0	1,3	±	0,2	0,0	±	0,0
B VILLD F1	37,4	±	6,0	50,1	±	12,1	1,3	±	0,2	0,0	±	0,0
B VILLD F3	36,4	±	7,9	42,5	±	9,0	1,2	±	0,2	0,0	±	0,0
B CH	37,0	±	5,0	41,0	±	10,0	1,1	±	0,2	0,0	±	0,0
B MAM M. F	38,0	±	5,0	42,0	±	11,0	1,1	±	0,2	0,0	±	0,0
Prom.	36,4	±	5,2	43,6	±	9,6	1,2	±	0,2	0,0	±	0,0
Tomate												
T ACH F1	24,6	±	4,2	28,2	±	6,6	1,1	±	0,1	0,0	±	0,0
T ACH F3	31,1	±	5,2	37,8	±	10,7	1,2	±	0,2	0,0	±	0,0
T VILLS F2	30,7	±	4,6	39,2	±	8,4	1,3	±	0,2	0,0	±	0,0
T VELFlor T	39,0	±	15,2	38,0	±	18,8	1,2	±	0,5	0,0	±	0,0
T APA PI2	26,7	±	4,6	29,9	±	5,6	1,1	±	0,2	0,0	±	0,0
T JO 12	34,3	±	2,5	44,6	±	6,2	1,3	±	0,1	0,0	±	0,0
Prom.	31,1	±	6,1	36,3	±	9,4	1,2	±	0,2	0,0	±	0,0
Promedio total	33,7	±	5,7	39,9	±	9,5	1,2	±	0,2	0,0	±	0,0

Solamente 3 aislamientos correspondieron a *P. drechsleri*.

La morfología de las colonias fue similar al caso de los aislamientos de *P. capsici*. No se observó ramificación de los zoosporangios. La morfología predominante fue ovoidal. Se observó la presencia de clamidosporas (Fig. 49). No se observó la producción de oogonios en cultivos individuales.



**Fig. 49.** Zoosporangios y clamidosporas de *P. drechsleri* (Aislamiento B AG F8)

En cuanto a las características cuantitativas, los zoosporangios presentaron un diámetro (DZ) de 30  $\mu\text{m}$  en todos los casos. La longitud (LZ) varió entre 41  $\mu\text{m}$  - 51 ( $X = 45 \mu\text{m}$ ). La relación  $L / DZ$  fue de: 1,4 - 1,7 ( $X = 1,5$ ) (Tabla 10).

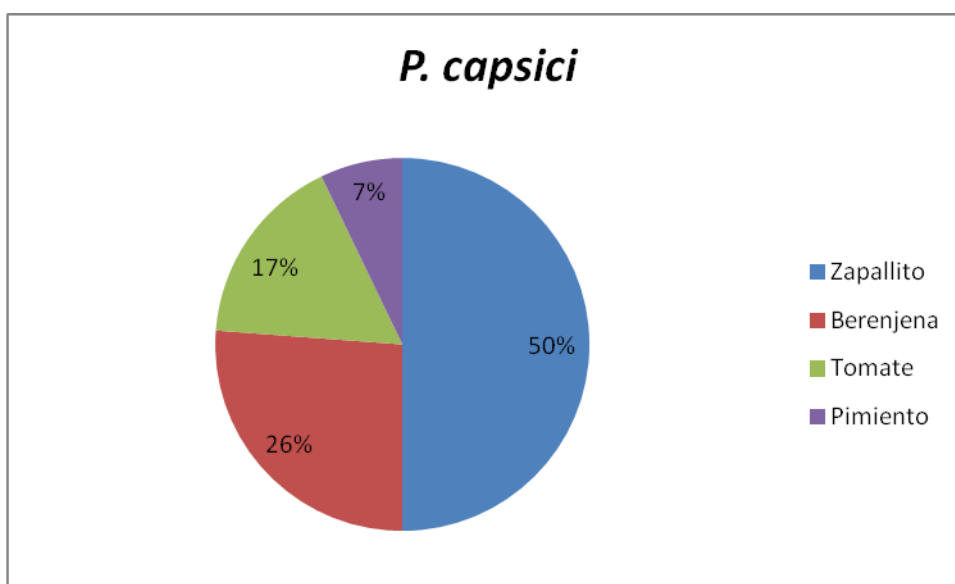
**Tabla 10.** Características morfométricas de los zoosporangios de *P. drechsleri* agrupados por hospedante

Aislamiento	Prom.	D		Prom.	D		Prom.	D		Prom.	D	
	DZ			LZ			L / DZ			LP		
Berenjena												
B AG F8	29,7	±	4,2	41,5	±	8,5	1,4	±	0,3	0,0	±	0,0
B AG T6	29,9	±	5,5	43,8	±	11,2	1,5	±	0,5	0,0	±	0,0
Pimiento												
P BEA Chile	29,8	±	5,7	50,7	±	2,1	1,7	±	0,3	0,0	±	0,0
Promedio total	29,8	±	5,2	45,3	±	45,3	1,5	±	0,4	0,0	±	0,0

#### IV.5.3.3. Clasificación de las especies identificadas según el origen

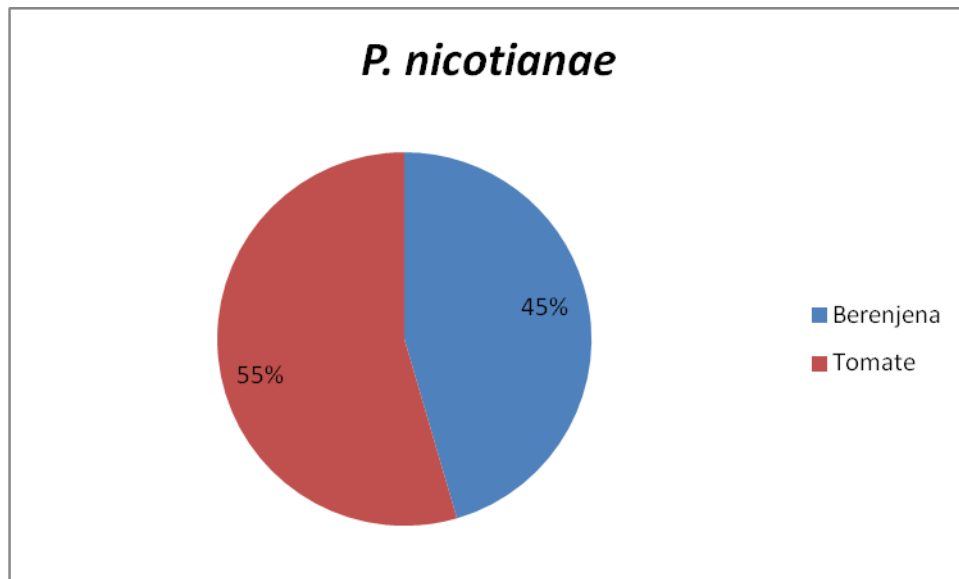
Las especies identificadas se diferenciaron según el patosistema que conformaron. *P. capsici* fue la especie predominante en todos los hospedantes con la excepción del tomate y resultó ser excluyente para zapallito. En el caso de la berenjena se identificaron tres especies: *P. capsici*, *P. nicotianae* y *P. drechsleri*, mientras que en el caso del tomate y el pimiento fueron dos especies. *P. nicotianae* y *P. capsici* para el caso del tomate y *P. capsici* y *P. drechsleri* para el caso del pimiento. *P. capsici* fue la única especie identificada en las muestras de zapallito.

Los aislamientos de *P. capsici* provinieron en un 50 % de cultivos de zapallito, seguidos por un 26 % provenientes de berenjena, un 17 % de tomate y un 7 % de pimiento (Fig. 50).



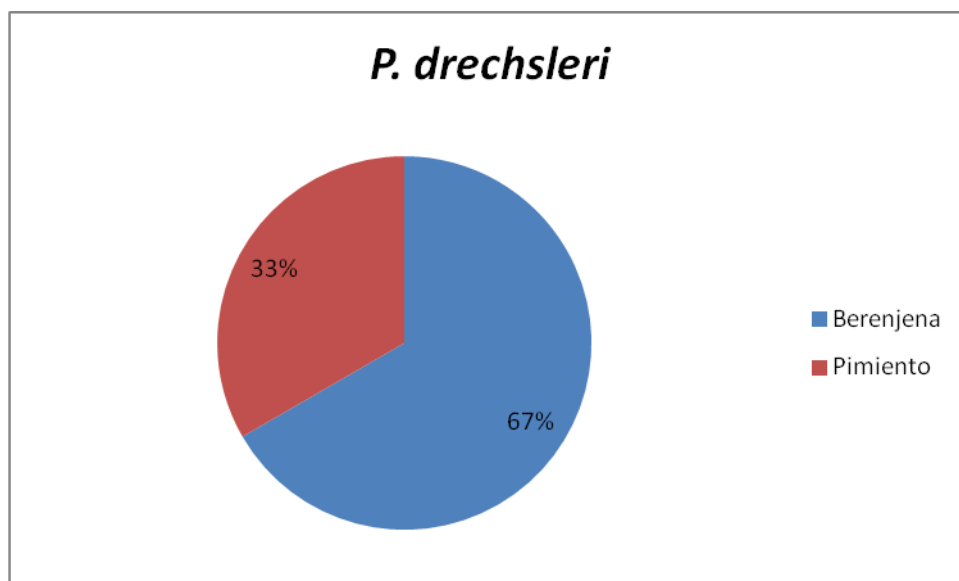
**Fig. 50.** Origen de los aislamientos de *P. capsici*

Los aislamientos identificados como *P. nicotianae* fueron obtenidos en un 55 % a partir de cultivos de tomate y en un 45 % a partir de cultivos e berenjena (Fig. 51).



**Fig. 51.** Origen de los aislamientos de *P. nicotianae*

Los aislamientos identificados como *P. drechsleri* provinieron en un 67 % de cultivos de berenjena y en un 33 % de pimiento (Fig. 52).



**Fig. 52.** Origen de los aislamientos de *P. drechsleri*

También se observaron diferencias entre las tres especies aisladas, en cuanto al momento del ciclo del cultivo hospedante en el cual estuvieron presentes. Los aislamientos de *P. capsici* y de *P. drechsleri* fueron recuperados a partir de plantas sintomáticas en el estadio reproductivo (Tabla 8 y 10), mientras que de los once

aislamientos de *P. nicotianae*, uno perteneció al estadio de plantín y el resto al reproductivo (Tabla 9).

#### **IV.5.4. Conservación de los aislamientos**

Cuando se analizaron los tres métodos empleados para la conservación de las porciones de crecimiento micelial activo (7 días); estos fueron: los tubos estría con AV8, los tubos con agua destilada estéril (ADE) y los tubos con ADE y la adición de tres semillas de alpiste pregerminadas y autoclavadas, se observó un desempeño diferente con cada método.

Los aislamientos conservados en tubos estría con AV8 perdieron su viabilidad al cabo de 3 meses (con la excepción de 3 aislamientos), y presentaron en general problemas de contaminación por hongos y bacterias a posteriori. Esto, probablemente, esté asociado al rico contenido de nutrientes que contiene este medio.

Cuando se conservó en ADE los resultados fueron mejores que con el método previo, en cuanto a que se prolongó la conservación de los aislamientos por aproximadamente un año, pero también con algunos problemas de contaminación.

Sin embargo, el tercer método, que incluyó las semillas de alpiste pregerminadas y autoclavadas, además del ADE, fue el más efectivo porque permitió lograr una conservación por períodos más prolongados (dos años) y con menor proporción de contaminaciones.

#### **IV.5.5. Determinación de los grupos de compatibilidad sexual**

La determinación fue realizada con una serie de 72 aislamientos identificados al nivel de especie; 60 de *P. capsici*, 8 de *P. nicotianae*, 3 de *P. drechsleri* y 1 de *P. cryptogea* (Tabla 11).

El 100 % de los aislamientos de *P. capsici*, *P. drechsleri* y *P. cryptogea* correspondieron al tipo de apareamiento A1. Mientras que entre los aislamientos de

*P. nicotianae*, siete correspondieron al tipo A1 y solo un aislamiento, que provino de tomate, correspondió al tipo A2.

**Tabla 11.** Lista de aislamientos identificados con su compatibilidad sexual

N°	Aislamiento	Hospedante	Origen	Localidad	Especie	MT <sup>A</sup>
1	B AG F18	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
2	BAN BR2	Berenjena	Brote	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
3	B AG T 3	Berenjena	Tallo	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
4	B AN T 1	Berenjena	Tallo	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
5	B APA F 1.2	Berenjena	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
6	B AG F 3	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
7	B AG F 2	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
8	B VELA F5	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
9	B VILL S F1.2 <sup>a</sup>	Berenjena	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
10	B VILL F1.1c	Berenjena	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
11	B AG F4	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
12	B VEL A F1	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
13	B AG F8	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. drechsleri</i>	A1
14	B AG F7	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
15	B VEL A F 3	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
16	B VEL A F2	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
17	B AG F1.2	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
18	BAG F9	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
19	B AG T1	Berenjena	Tallo	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
20	B AG BR 4	Berenjena	Brote	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
21	B AG F1	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
22	BAN BR 4	Berenjena	Brote	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
23	BAG F12.2	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
24	BAG T6	Berenjena	Tallo	Rodríguez	<i>P. drechsleri</i>	A1
25	BAG T8	Berenjena	Tallo	Rodríguez	<i>P. drechsleri</i>	A1
26	BAG F9	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
27	B AG F10	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. cryptogea</i>	A1
28	B VEL A F4	Berenjena	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
29	P VEL RO F2*	Pimiento	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
30	P VEL RO T*	Pimiento	Tallo	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
31	PAPA T 1	Pimiento	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
32	PAPA T 3	Pimiento	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
33	PAPA F3	Pimiento	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
34	ZVILLS F2	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
35	ZAPA T1	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
36	T VEL RO F 2	Tomate	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
37	T VILL S F 2.2	Tomate	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
38	T VEL RO F1*	Tomate	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1

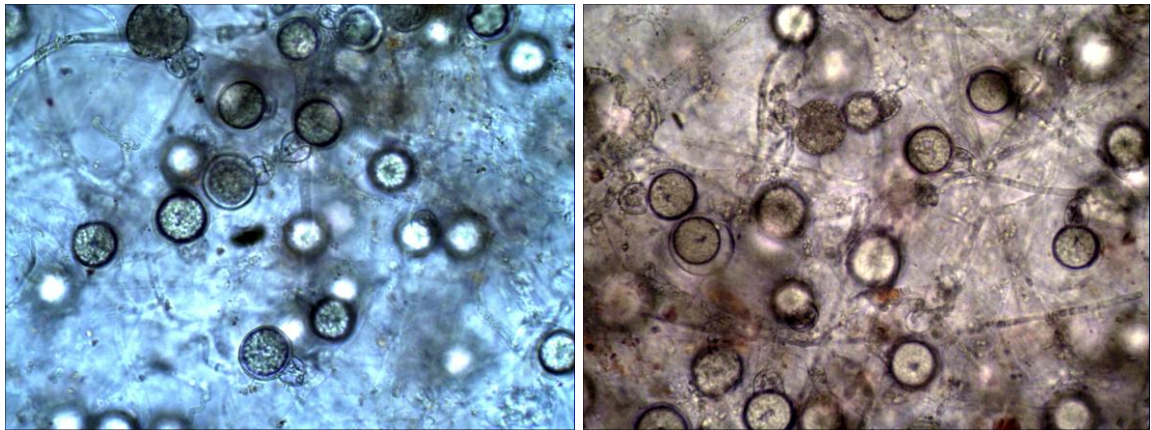
39	T VEL RO F 4	Tomate	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
40	TACH F 1	Tomate	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
41	TACH F 2	Tomate	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
42	T APA PI2	Tomate	Plantín	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A2
43	TACH F2	Tomate	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
44	TACH F3	Tomate	Fruto	Exaltación	<i>P. nicotianae</i>	A1
45	ZAPA T 5.1	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
46	ZOL T 7	Zapallito	Tallo	Luján	<i>P. capsici</i>	A1
47	ZACH F 2	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
48	ZACH T 3	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
49	Z OL F 1*	Zapallito	Fruto	Luján	<i>P. capsici</i>	A1
50	Z OL F 4	Zapallito	Fruto	Luján	<i>P. capsici</i>	A1
51	ZACH T 4	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
52	ZAPA T 4	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
53	ZAPA T 6.1	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
54	ZACH F 1	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
55	Z ACH F 5*	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
56	ZAPA F 5.1	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
57	Z VEL A F 1	Zapallito	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
58	Z VEL A F 2	Zapallito	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
59	Z OL F 5	Zapallito	Fruto	Luján	<i>P. capsici</i>	A1
60	ZAPA T6.2	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
61	Z AN F2	Zapallito	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
62	ZAN F1	Zapallito	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
63	ZAPA T1	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
64	ZACH F7	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
65	ZACH F4	Zapallito	Fruto	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
66	ZOL T6	Zapallito	Tallo	Luján	<i>P. capsici</i>	A1
67	ZOL FE	Zapallito	Fruto	Luján	<i>P. capsici</i>	A1
68	ZAPA T5.1	Zapallito	Tallo	Exaltación	<i>P. capsici</i>	A1
69	ZUCH UÑ F612	Zucchini	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
70	ZUCH UÑ F 3	Zucchini	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
71	ZUCH UÑO F 6	Zucchini	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1
72	ZUCH UÑ F	Zucchini	Fruto	Rodríguez	<i>P. capsici</i>	A1

<sup>A</sup>MT: Mating Type (tipo de apareamiento)

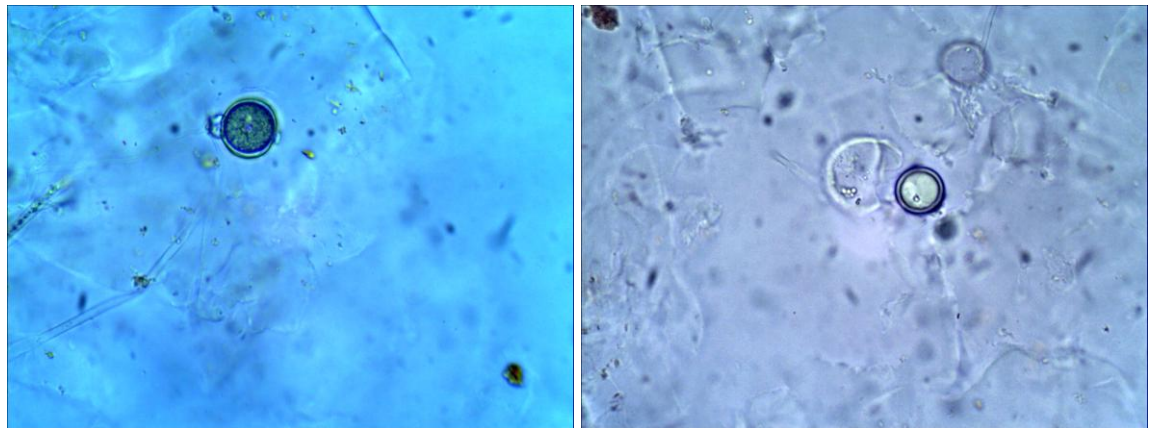
Con color rojo se resalta el aislamiento del tipo A2 correspondiente a *P. nicotianae*, que provino de plantines de tomate de Exaltación de La Cruz.

Se evidenció, en general, por la observación al microscopio, la presencia de una abundante cantidad de oogonios cuando se aparearon los aislamientos de *P. capsici* (Fig. 53), mientras que con las demás especies la producción de oogonios resultó ser escasa (Fig. 54).





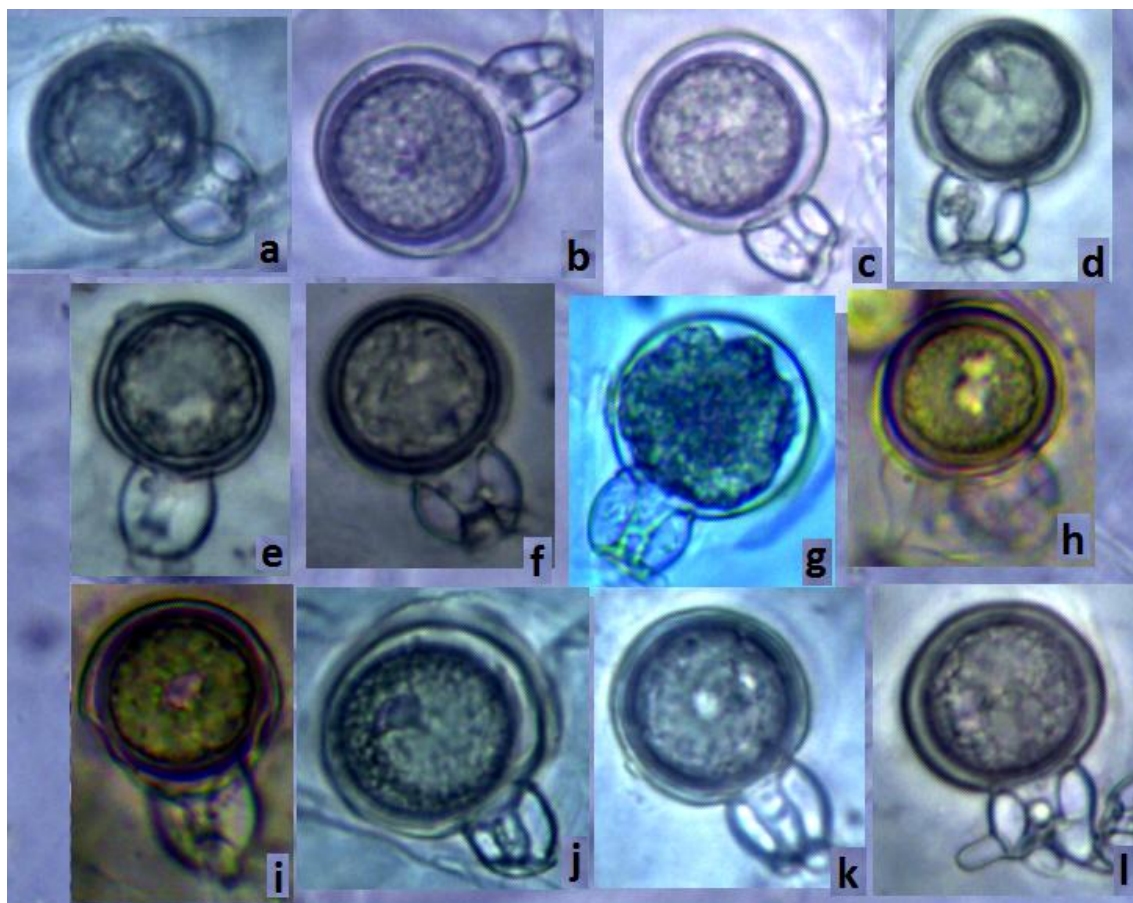
**Fig. 53.** Oögonios de *P. capsici* producidos por el cruzamiento con una cepa de referencia de *P. capsici* del MT opuesto; un aislamiento de zapallito (izq.) y un aislamiento de berenjena (der.)



**Fig. 54.** Oögonios de *P. nicotianae*, producidos por el cruzamiento de aislamientos procedentes de tomate con una cepa de referencia de *P. capsici* del MT opuesto

El diámetro de los oögonios de *P. capsici* varió de 25  $\mu\text{m}$  - 37  $\mu\text{m}$  diám. ( $X = 31 \mu\text{m}$  diám.).





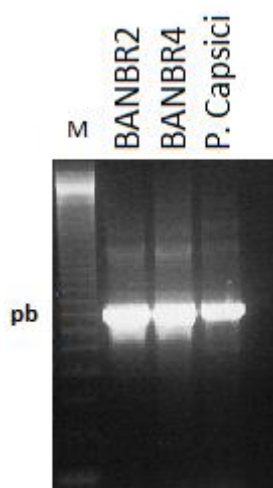
**Fig. 55.** Anteridios anfígenos de *P. capsici*

Aislamientos; a: Z ACH T4.1; b: Z OL F4; c: B AG F7; d: B VELA F2; e: T VELRO F5; f: Z VELA F3; g: Z ACH F5; h: P VELRO F2; i: Z AN F1; j: ZUCH UÑ F; k: Z APA F5 y l: B AG Br4.

#### IV.5.6. Identificación molecular mediante secuenciación de la región ITS 1, 5.8S e ITS 2 del ADNr

##### IV.5.6.1. Amplificación y análisis de las secuencias

La amplificación mediante PCR con los *primers* ITS5/ITS4 generó fragmentos de 750 - 850 pares de bases (pb) de tamaño esperado para las especies de *Phytophthora* (Fig. 56).



**Fig. 56.** Fotografía del gel de agarosa con los productos de la PCR de *P. capsici* (control) y dos aislamientos de *P. capsici*, mediante el uso de los primers universales ITS 4 e ITS 5 del ADNr. M: marcador de peso molecular

El alineamiento múltiple y el posterior análisis con el programa MEGA permitieron identificar 505 sitios conservados y 158 sitios variables. La mayoría de las posiciones variables se ubicaron en la región ITS2.

El análisis realizado con BLAST permitió determinar, con valores de *score* altos, que el 84 % (56) de la serie de aislamientos correspondió a *P. capsici*, el 10 % (7) a *P. nicotianae*, el 3% (2) a *P. drechsleri* y el 3% (2) a *P. cryptogea* (Anexo 7).

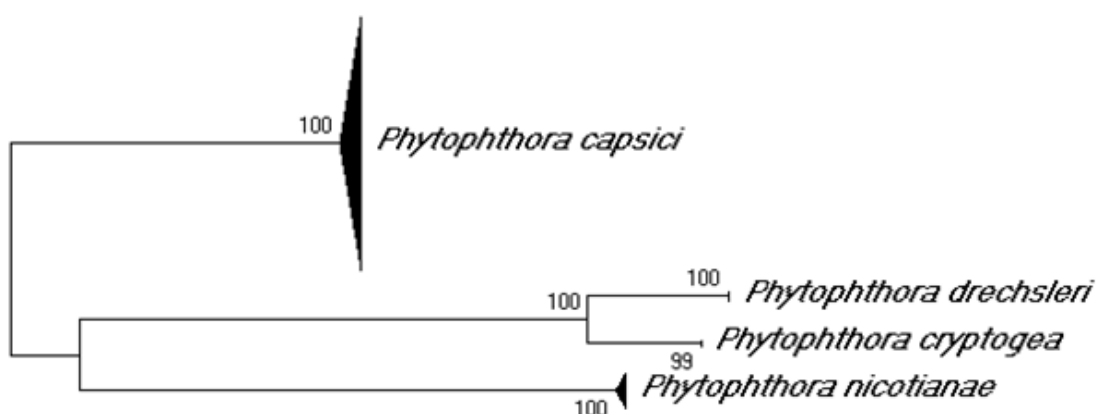
Este método de identificación, en conjunto con la identificación morfológica, permitió identificar un total de 88 aislamientos. Se corroboró molecularmente un total

de 35 aislamientos identificados morfológicamente, de los cuales 30 correspondieron a *P. capsici*, 3 a *P. nicotianae* y 2 a *P. drechsleri* (Anexo 7).

#### IV.5.6.2. Análisis filogenético

##### IV.5.6.2.1. Construcción de árboles filogenéticos

El árbol filogenético reconstruido con el programa MEGA ubica a las secuencias en cuatro grupos (Fig. 57). La topología del árbol y el agrupamiento de las secuencias son congruentes con la información obtenida en el análisis realizado en BLAST (Genbank).



**Fig. 57.** Análisis filogenético

La historia evolutiva fue inferida con el método de Máxima Verosimilitud. Se muestran los árboles consenso basados en la secuencia ITS1-5.8S-ITS2. El porcentaje de árboles en los que los taxones asociados fueron agrupados juntos está indicado en las ramas.

##### IV.5.6.2.2. Construcción de redes filogenéticas de *P. capsici*

En una serie de 61 aislamientos identificados como *P. capsici* se definieron 20 haplotipos (Hap), que fueron analizados por localidad y por hospedante (Tabla 12). El análisis mostró que los tres haplotipos más frecuentes fueron: el 13, el 14 y el 16,

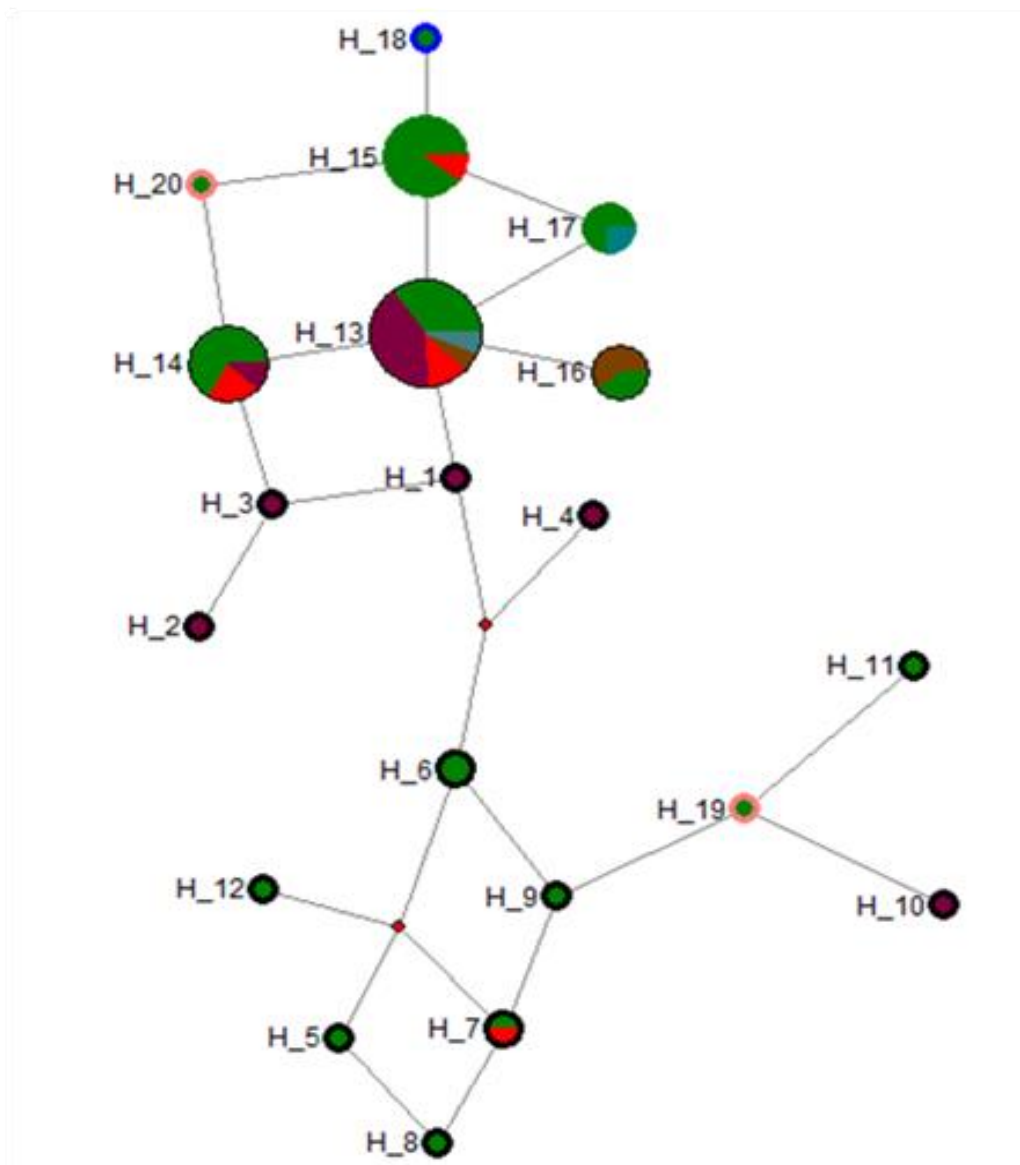
que fueron, además, centrales en la red. El haplotipo 15, también central en la red y frecuentemente representado fue exclusivo para Argentina. El mismo fue aislado a partir de cultivos de zapallito y de berenjena, de General Rodríguez, Luján y Exaltación de la Cruz. Los haplotipos 1, 2, 3, 4 y 10 correspondieron a aislamientos de berenjena de General Rodríguez. Los haplotipos 5, 6, 8, 9, 11 y 12 resultaron ser únicos para especies de Cucurbitáceas de General Rodríguez. El haplotipo 7, también estuvo presente en las muestras de cultivos de tomate y de zapallito de esta localidad, mientras que los haplotipos 19 y 20 fueron observados exclusivamente en muestras de zapallito de Luján. Por otro lado, el haplotipo 18 fue observado exclusivamente en zapallito de Exaltación de la Cruz; el haplotipo 16 estuvo presente en zucchini y zapallito de Exaltación de La Cruz y General Rodríguez. El haplotipo 17 fue observado en pimiento y en zapallito, también de Exaltación de La Cruz y General Rodríguez (Tabla 12 y Fig. 58).

**Tabla 12.** Distribución de haplotipos por localidad de muestreo y por hospedante. Variabilidad de las secuencias de ADN, prueba de neutralidad y análisis de recombinación

Haplotipo y número de aislamientos	Definición del haplotipo	Genbank N° Acceso	Localidad	Hospedante
[Hap_1: 1	AACAGGGGGAGTATG	KF746518	Rodríguez	Berenjena
[Hap_2: 1	AACAGGGGGAGTTTA	KF746519	Rodríguez	Berenjena
[Hap_3: 1	AACAGGGGGAGTTTG	KF746520	Rodríguez	Berenjena
[Hap_4: 1	AACAGAGGGAGTAGG	KF746521	Rodríguez	Berenjena
[Hap_5: 1	AACAAAGGGAATATA	KF746523	Rodríguez	Zapallito
[Hap_6: 2	AACAAAGGGAGTATG	KF746524	Rodríguez	Zapallito
		KF746525	Rodríguez	Zapallito
[Hap_7: 2	AACAAAGGGAGTTTA	KF746526	Rodríguez	Zapallito
		KF746535	Rodríguez	Tomate
[Hap_8: 1	AACAAAGGGAATTTA	KF746528	Rodríguez	Zapallito
[Hap_9: 1	AACAAAGGGAGTTTG	KF746529	Rodríguez	Zapallito
[Hap_10: 1	AACCAAGAAAGTATG	KF746532	Rodríguez	Berenjena
[Hap_11: 1	AACAAAAAAGCTTG	KF746537	Rodríguez	Zapallito
[Hap_12: 1	AACAAAGGAAGTATA	KF746538	Rodríguez	Zapallito
[Hap_13: 16	AACAGGGGGGGTATG	KF746539	Rodríguez	Pimiento
		KF746540	Exaltación	Zapallito
		KF746541	Exaltación	Zapallito
		KF746542	Rodríguez	Tomate
		KF746543	Exaltación	Zapallito
		KF746544	Rodríguez	Berenjena
		KF746545	Rodríguez	Berenjena
		KF746548	Rodríguez	Zapallito

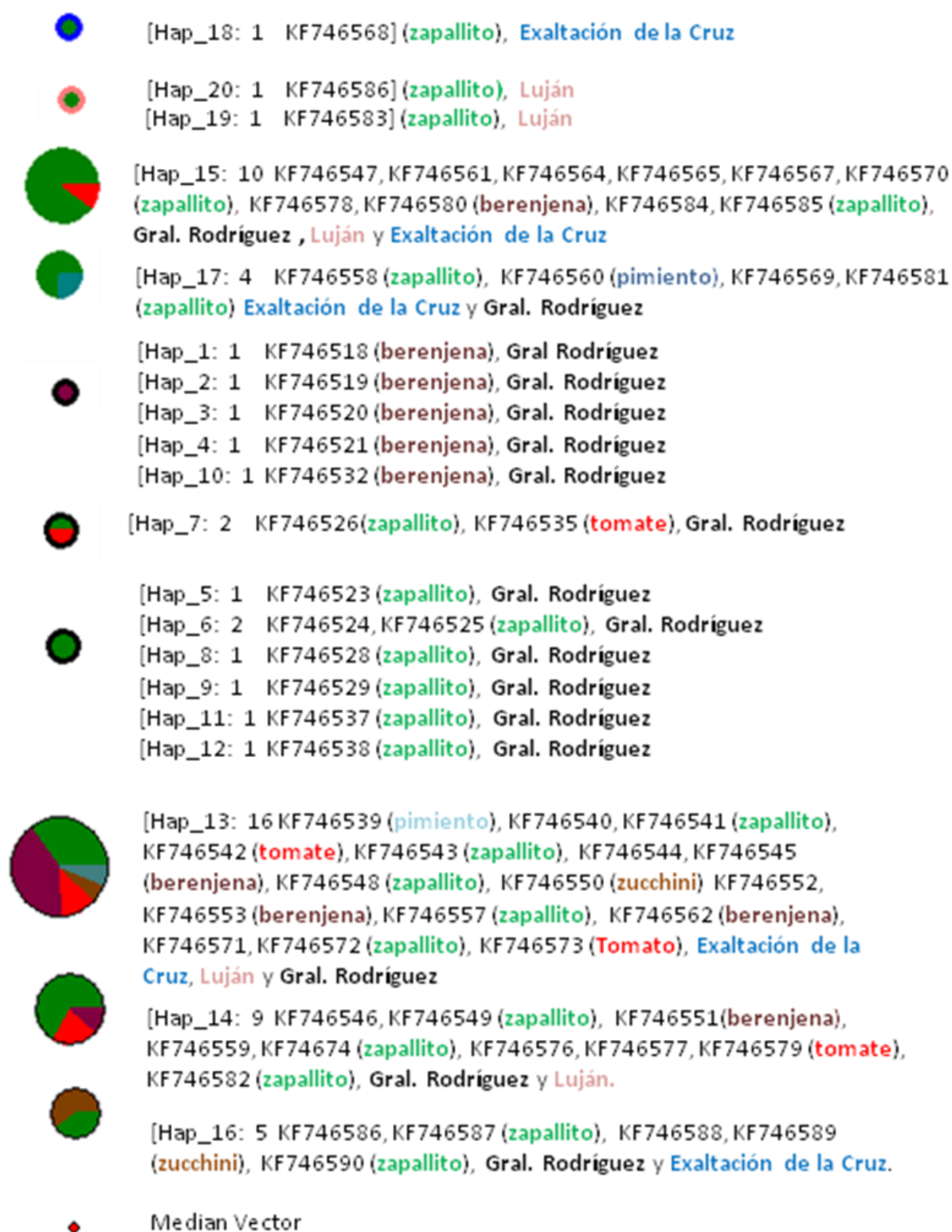
		KF746550	Rodríguez	Zucchini
		KF746552	Rodríguez	Berenjena
		KF746553	Rodríguez	Berenjena
		KF746557	Luján	Zapallito
		KF746562	Rodríguez	Berenjena
		KF746571	Exaltación	Zapallito
		KF746572	Exaltación	Zapallito
		KF746573	Exaltación	Tomate
		AB217670	Japón	Calabaza
		AB367368	Japón	Melón
		AB367369	Japón	Sandía
		AB367370	Japón	Pepino
		AB367372	Japón	Pimiento
		AJ854286	Italia	Zapallito
		AJ854287	Italia	Zapallito
		DQ464019	EEUU	Berenjena
		DQ464029	EEUU	Berenjena
		DQ464041	EEUU	Pimiento
		EU162757	EEUU	Sandía
		EU162758	EEUU	Sandía
		HQ638209	Corea del Sur	Chaucha
		JN937590	Corea del Sur	Tomate
		JQ410453	Brasil	Pimiento
[Hap_14: 9	AACAGGGGGGGTTTG	KF746546	Rodríguez	Zapallito
		KF746549	Luján	Zapallito
		KF746551	Rodríguez	Berenjena
		KF746559	Luján	Zapallito
		KF746574	Luján	Zapallito
		KF746576	Rodríguez	Tomate
		KF746577	Rodríguez	Tomate
		KF746579	Rodríguez	Tomate
		KF746582	Luján	Zapallito
		AY423292	EEUU	Tomate
		DQ069293	Inglaterra	Zapallito
		DQ464018	EEUU	Pimiento
		DQ464021	EEUU	Tomate
		DQ464022	EEUU	Pimiento
		DQ464023	EEUU	Pimiento
		DQ464024	EEUU	Pimiento
		DQ464025	EEUU	Zapallito
		DQ464026	EEUU	Pimiento
		DQ464031	EEUU	Pimiento
		DQ464032	EEUU	Tomate
		DQ464042	EEUU	Pimiento
		DQ464043	EEUU	Chaucha
		DQ464044	EEUU	Chaucha
		DQ464045	EEUU	Chaucha
		EF617375	EEUU	Tomate

		EF617376	EEUU	Pepino
		EF617377	EEUU	Zapallito
		GU011684	EEUU	Chaucha
		HQ261520	EEUU	Berenjena
		JN382543	Italia	Pimiento
		JN382544	Italia	Pimiento
		JQ071939	EEUU	Pimiento
[Hap_15: 10]	TACAGGGGGGGTATG	KF746547	Exaltación	Zapallito
		KF746561	Exaltación	Zapallito
		KF746564	Exaltación	Zapallito
		KF746565	Exaltación	Zapallito
		KF746567	Exaltación	Zapallito
		KF746570	Exaltación	Zapallito
		KF746578	Rodríguez	Berenjena
		KF746580	Rodríguez	Berenjena
		KF746584	Luján	Zapallito
[Hap_16: 5]	AA-AGGGGGGGTATG	KF746585	Exaltación	Zapallito
		KF746586	Exaltación	Zapallito
		KF746587	Exaltación	Zapallito
		KF746588	Rodríguez	Zucchini
		KF746589	Rodríguez	Zucchini
		KF746590	Exaltación	Zapallito
		DQ464033	EEUU	Pimiento
		DQ464039	EEUU	Pimiento
		HQ643183	Sudáfrica	Zucchini
[Hap_17: 4]	ACAGGGGGGGTATG	HQ822261	Sudáfrica	Zapallito
		KF746558	Exaltación	Zapallito
		KF746560	Exaltación	Pimiento
		KF746569	Rodríguez	Zapallito
[Hap_18: 1]	TTCAGGGGGGGTATG	KF746581	Rodríguez	Zapallito
[Hap_19: 1]	AACAAAGAAAGTTTG	KF746568	Exaltación	Zapallito
[Hap_20: 1]	TACAGGGGGGGTTTG	KF746583	Luján	Zapallito
		KF746586	Luján	Zapallito



**Fig. 58.** Red filogenética con la serie de aislamientos de *P. capsici* procedentes de los cultivos de interés: zapallito, berenjena, tomate y pimiento, y de zucchini

En el siguiente listado se indica el origen de los aislamientos (por hospedante y por localidad), en el mismo orden en que aparecen en la figura:





#### IV.5.6.2.3. Análisis preliminar de la variabilidad y la estructura genética de *P. capsici*

Los estimadores de diversidad para los aislamientos procedentes de diferentes localidades y de hospedantes mostraron que en todas las categorías se detectó una diversidad de Haplotipos (Hd) y de nucleótidos ( $\pi$ ). El número total de sitios de segregación (s) para la región ITS fue de 15 entre los 581 pares de bases analizados. Los polimorfismos se ubicaron entre los loci ITS1 e ITS2. El locus 5.8.S. resultó ser polimórfico (Tabla 13).

**Tabla 13.** Estimadores promedio de diversidad para el locus ITS de *P. capsici* con aislamientos agrupados por categorías de hospedantes predefinidas  
s = N° de sitios de segregación h = N° de haplotipos, Hd = diversidad de haplotipos,  $\pi$  = Tajima's  $\pi$ ,  $\theta_w$  = Watterson's theta por secuencia y k = N° promedio de diferencias de pares de nucleótidos.

	N	Estimadores de diversidad					
		s	h	Hd	$\pi$	$\theta_w$	k
	61	15	20	0,642	0,0035	2,76816	2,02433
Categoría	Localidad						
<b>Gral. Rodríguez</b>	34	2	17	0,69	0,00439	2,89381	2,53968
<b>Luján</b>	7	0	4	0,722	0,00354	2,57556	2,05556
<b>Exaltación de la Cruz</b>	20	0	5	0,257	0,00046	0,61509	0,26667
Categoría	Hospedante						
<b>Zapallito</b>	37	2	14	0,694	0,00385	2,67106	2,23193
<b>Berenjena</b>	13	2	8	0,808	0,00455	3,22247	2,64103
<b>Tomate</b>	6	0	3	0,9	0,00482	2,88	2,8
<b>Zucchini</b>	3	0	2	0	0	0	0
<b>Pimiento</b>	2	0	2	0	0	0	0

Los estimadores  $F_{ST}$  permitieron indicar una diferenciación baja pero significativa entre Exaltación de la Cruz y Gral. Rodríguez ( $F_{ST} = 0.05116$ ) (Tabla 14a). Mientras que no se evidenciaron diferencias significativas entre Exaltación de la Cruz y Luján ( $F_{ST} = 0.54307$ ), ni entre Luján y Gral. Rodríguez ( $F_{ST} = 0.26458$ ). En cuanto a los hospedantes, solo hubo diferencias significativas entre los aislamientos procedentes de tomate y de berenjena ( $F_{ST} = 0.05084$ ) (Tabla 14b).

**Tabla 14a.** Estimadores de diferenciación genética promedio ( $F_{ST}$ ) del locus ITS para *P. capsici* con aislamientos agrupados en categorías predefinidas por localidad

\*Nivel de significancia: 0,05.

Localidad / $F_{ST}$	Gral. Rodríguez	Luján	Exaltación de la Cruz
Gral. Rodríguez	0.00000		
Luján	0.26458	0.00000	
Exaltación de la Cruz	0.05116*	0.54307	0.00000

**Tabla 14b.** Estimadores de diferenciación genética promedio ( $F_{ST}$ ) del locus ITS para *P. capsici* con aislamientos agrupados en categorías predefinidas por hospedante

\*Nivel de significancia: 0,05.

Hospedante / $F_{ST}$	Berenjena	Zapallito	Tomate	Zucchini	Pimiento
Berenjena	0.00000				
Zapallito	0.07101	0.00000			
Tomate	0.05084*	-0.07364	0.00000		
Zucchini	0.21335	0.17344	0.24668	0.00000	
Pimiento	-0.12411	-0.03998	-0.03604	0.24528	0.00000

La prueba de AMOVA, que discriminó entre familias de hospedantes, entre hospedantes, dentro de la familia y dentro de cada especie hospedante, no mostró diferencias significativas, con un 2,50 % de variación que fue explicada por las diferencias entre familias (Cucurbitáceas vs. Solanáceas), un 8.31 % que fue explicado por la diferencia entre hospedantes y un 94,20 % dentro de la categoría especie hospedante (Tabla 15).

Las localidades se excluyeron del análisis de AMOVA, por constituir solo tres fuentes de variación.

**Tabla 15.** Resultados de la prueba de AMOVA entre los hospedantes muestreados con presencia de *P. capsici* en el NE de Buenos Aires, Argentina

Fuentes de Variación	d.f.	Suma de Cuadrados	Componentes de la Varianza	Porcentaje de Variación
Entre familias (de Hospedante)	1	0.780	- 0.01136Va	2.5 %
Entre hospedantes (dentro de la familia)	3	1932	0.03767Vb	8.31 %
Dentro de cada hospedante	54	23068	0.42718Vc	94.2 %
Total	58	25780	0.45349	

#### IV.6. Análisis de la sensibilidad al metalaxil

En la serie analizada de 67 aislamientos, no hubo crecimiento de las colonias, por lo que todos los aislamientos de *P. capsici*, *P. nicotianae*, *P. drechsleri* y *P. cryptogea*, resultaron ser sensibles al metalaxil con una dosis de 100 ppm (Anexo 7). Esta serie comprendió aislamientos provenientes de muestras de: las tres localidades y los cuatro hospedantes y órganos afectados.

#### IV.7. Patogenicidad y la virulencia de aislamientos de *P. capsici*

##### IV.7.1. Evaluación preliminar de patogenicidad con tres aislamientos de *P. capsici* inoculados en plantines de berenjena, zapallito, tomate y pimiento, mediante dos métodos alternativos

Los dos métodos evaluados, el que consistió en trocitos de AV8 con micelio en activo crecimiento (AV8) y el de semillas de mijo inoculadas (MI), tuvieron un desempeño diferente en cada hospedante, al cabo de tres semanas posteriores a la inoculación.

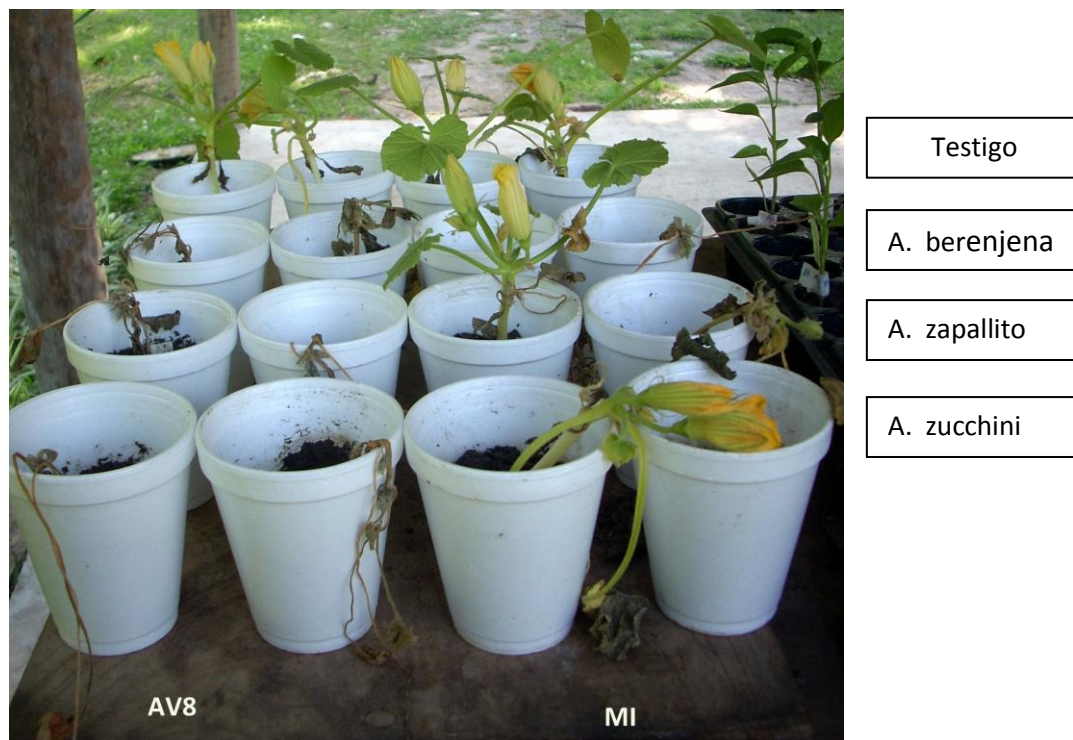
En cuanto a los aislamientos de *P. capsici* utilizados, el procedente de cultivos de zucchini fue el único que produjo síntomas, con el método AV8, en los plantines de pimiento, de tomate y de zapallito. Por otro lado, el aislamiento de berenjena inoculado en plantines de pimiento, con el método MI, fue el único que produjo síntomas.

Los aislamientos inoculados en plantines de berenjena, mediante ambos métodos, no produjeron síntomas de la enfermedad causada por *Phytophthora* spp.; no se diferenciaron del testigo (Fig. 59).



**Fig. 59.** Evaluación de patogenicidad en plantines de berenjena

Los aislamientos inoculados en plantines de zapallito, con el método AV8, produjeron un 100 % de enfermedad, mientras que con el método MI, solo los aislamientos provenientes de zucchini y de berenjena produjeron un 100 % de muerte. El aislamiento proveniente de zapallito solo produjo un 50 % de muerte (Fig. 60).



**Fig. 60.** Evaluación de patogenicidad en plantines de zapallito

En el caso del tomate, el método AV8 produjo un 100 % de muerte solo con el aislamiento de zucchini. El método MI no fue efectivo con ninguno de los tres aislamientos inoculados (Fig. 61).



**Fig. 61.** Evaluación de patogenicidad en plantines de tomate



El aislamiento proveniente de zucchini que fue inoculado en plantines de pimiento, con el método AV8, produjo un 100 % de muerte. En el caso del aislamiento proveniente de zapallito inoculado con el mismo método, ésta fue del 50 %, mientras que con el método MI solo el aislamiento proveniente de berenjena produjo un 50 % de muerte (Fig. 62).



**Fig. 62.** Evaluación de patogenicidad en plantines de pimiento

#### **IV.7.2. Evaluación de la patogenicidad y virulencia en frutos de pimiento, zapallito, tomate y berenjena**

A los dos días de incubación, el 100 % de los aislamientos de *P. capsici* provenientes de pimiento, zapallito, berenjena y tomate, expresaron síntomas en todos los frutos inoculados, mientras que los controles permanecieron sanos (Fig. 63).

A los siete días posteriores a la inoculación, las lesiones producidas por todos los aislamientos cubrieron en forma parcial los frutos, pero se observaron diferencias significativas en la virulencia entre los aislamientos inoculados en cada hospedante (Tabla 16).



**Fig. 63.** Lesiones en frutos inoculados con aislamientos de *P. capsici*



**Tabla 16.** Resultados del análisis de la varianza de la virulencia de 14 aislamientos de *P. capsici*, inoculados en: pimiento, zapallito, berenjena y tomate

**ANOVA**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Zapallito	Inter-grupos	39,395	13	3,030	14,301	,000
	Intra-grupos	5,933	28	,212		
	Total	45,328	41			
Berenjena	Inter-grupos	52,115	13	4,009	28,732	,000
	Intra-grupos	3,907	28	,140		
	Total	56,021	41			
Tomate	Inter-grupos	34,839	13	2,680	14,928	,000
	Intra-grupos	5,027	28	,180		
	Total	39,866	41			
Pimiento	Inter-grupos	35,044	13	2,696	6,552	,000
	Intra-grupos	11,520	28	,411		
	Total	46,564	41			

La media corresponde al diámetro medio en mm de la lesión.

Las comparaciones múltiples mostraron que los aislamientos inoculados en zapallito, se diferenciaron en tres grupos de virulencia ( $p < 0,05$ ) (Tabla 16a). El primer grupo estuvo integrado por aislamientos provenientes de zapallito, berenjena y tomate. El segundo por aislamientos provenientes de zapallito y de tomate. El último por tomate y pimiento. Las lesiones fluctuaron entre 3 – 6,5 cm.

**Tabla 16a.** Comparaciones múltiples por hospedante

<b>Zapallito</b>	<b>Aislamiento</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa = .05</b>		
			<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
HSD de Tukey(a)	Z VELA F1	3	3,033		
	Z ACH F5	3	3,033		
	T VELRO F3	3	3,100		
	Z ACH T3	3	3,367		
	B AGF18	3	3,400		
	P APA T3	3	3,433		
	B AG Br4	3	3,500		
	B VELA F1	3	3,533		
	B AG F7	3	3,567		
	Z OL F1	3	3,900		
	Z APA T4	3	4,267	4,267	
	Z OL F5	3	4,300	4,300	
	T VELRO F1	3		5,567	5,567
	P VELRO F2	3			6,500
	Sig.		,094	,078	,452

Se muestran las medias en cm para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Los aislamientos inoculados en berenjena, se diferenciaron en seis grupos ( $p < 0,05$ ) (Tabla 16b). El primer grupo fue integrado por aislamientos de pimiento y de tomate. El segundo, por aislamientos de tomate y de zapallito. El tercero, por aislamientos de zapallito y de berenjena. El cuarto, el quinto y el sexto, por berenjena, zapallito y pimiento. Las lesiones fluctuaron entre 2,8 – 6,2 cm.

**Tabla 16b.** Comparaciones múltiples por hospedante

<b>Berenjena</b>	Aislamiento	N	Subconjunto para alfa = .05					
			1	2	3	4	5	6
HSD de Tukey(a)	P APA T3	3	2,767					
	T VELRO F3	3	3,200	3,200				
	T VELRO F1	3	3,467	3,467				
	Z ACH F5	3		4,033	4,033			
	B AG F7	3			4,967	4,967		
	Z ACH T3	3			5,100	5,100	5,100	
	Z OL F1	3				5,200	5,200	5,200
	B AGF18	3				5,233	5,233	5,233
	P VELRO F2	3				5,400	5,400	5,400
	Z VELA F1	3				5,933	5,933	5,933
	Z APA T4	3				6,000	6,000	6,000
	Z OL F5	3				6,000	6,000	6,000
	B VELA F1	3					6,100	6,100
	B AG Br4	3						6,233
	Sig.		,571	,312	,072	,091	,114	,091

Se muestran las medias en cm para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

En el caso del tomate, los aislamientos inoculados también se separaron en seis grupos ( $p < 0,05$ ) (Tabla 16c). El primer grupo fue integrado por aislamientos provenientes de pimiento, zapallito y tomate. El segundo y el tercer grupo por aislamientos provenientes de todos los hospedantes. El cuarto y el quinto por zapallito y berenjena, y el sexto por berenjena, zapallito y tomate. Las lesiones fluctuaron entre 2,7 – 6,10 cm.

**Tabla 16c.** Comparaciones múltiples por hospedante

Tomate	Aislamiento	N	Subconjunto para alfa = .05					
			1	2	3	4	5	6
HSD de Tukey(a)	P APA T3	3	2,77					
	Z VELA F1	3	3,23	3,23				
	Z ACH F5	3	3,40	3,40	3,40			
	P VELRO F2	3	3,60	3,60	3,60			
	T VELRO F3	3	3,60	3,60	3,60			
	Z APA T4	3		4,03	4,03	4,03		
	B AGF18	3		4,03	4,03	4,03		
	Z OL F5	3		4,07	4,07	4,07		
	B AG F7	3		4,33	4,33	4,33		
	Z ACH T3	3			4,60	4,60	4,60	
	B AG Br4	3			4,60	4,60	4,60	
	B VELA F1	3				5,03	5,03	5,03
	Z OL F1	3					5,80	5,80
	T VELRO F1	3						6,10
	Sig.		,498	,139	,076	,239	,076	,168

Se muestran las medias en cm para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Los aislamientos inoculados en frutos de pimiento se separaron en cinco grupos ( $p < 0,05$ ) (Tabla 16d). El primer grupo estuvo integrado por aislamientos provenientes de pimiento, zapallito y berenjena. El segundo grupo por zapallito y berenjena. El tercero y el cuarto, por zapallito, berenjena y tomate. El último, por todos los hospedantes. Las lesiones fluctuaron entre 2,2 – 4,4 cm.

**Tabla 16d.** Comparaciones múltiples por hospedante

Pimiento	Aislamiento	N	Subconjunto para alfa = .05				
			1	2	3	4	5
HSD de Tukey(a)	P APA T3	3	2,200				
	Z ACH F5	3	2,233				
	Z ACH T3	3	2,333	2,333			
	Z VELA F1	3	2,633	2,633	2,633		
	B AG F7	3	2,967	2,967	2,967	2,967	
	B AG Br4	3	3,167	3,167	3,167	3,167	
	Z OL F5	3	3,267	3,267	3,267	3,267	
	Z APA T4	3	3,367	3,367	3,367	3,367	3,367
	B AGF18	3	3,700	3,700	3,700	3,700	3,700
	B VELA F1	3	3,833	3,833	3,833	3,833	3,833
	T VELRO F1	3		4,233	4,233	4,233	4,233
	T VELRO F3	3			4,433	4,433	4,433
	Z OL F1	3				4,633	4,633
	P VELRO F2	3					5,233
	Sig.		,157	,054	,082	,139	,062

Se muestran las medias en cm para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

#### IV.8. Determinación de la presencia de oosporas de *Phytophthora capsici* a partir de residuos de tejidos vegetales

En ningún caso se detectó la presencia de oosporas cuando se extrajeron cuatro muestras de tejido de las porciones de tallo y del fruto, enterrados en macetas, al cabo de 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días y se realizaron las observaciones microscópicas.

#### IV.9. Detección de otras patologías asociadas a las partes aéreas, en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas.

En los hospedantes muestreados, zapallito, berenjena, tomate y pimiento, en las tres localidades se observó la presencia de otras patologías, además de las correspondientes a las especies de *Phytophthora*. Entre éstas, la berenjena

evidenció la mayor diversidad de patógenos. Se registró la presencia de *Alternaria* spp. en frutos, *Phomopsis* spp., *Colletotrichum* spp. y *Phoma* spp. en frutos y en tallos; *Verticillium* spp. y *Fusarium* spp. en tallos; en pimiento se detectó a *Colletotrichum* spp. en frutos; en zapallito y en tomate a *Fusarium* spp. en tallos y en zucchini a *Phoma* spp. en frutos.

#### **IV.9.1. Descripción de los síntomas asociados a otras patologías**

Para todos los hospedantes, se reportan las citas bibliográficas para cada uno de los patógenos que fueron detectados, con la excepción de: *Alternaria* spp. y *Phoma* spp. en cultivo de berenjena, los que no fueron descriptos.

##### **Berenjena**

###### *Alternaria* spp.

En los frutos hubo manchas circulares de distintos tamaños, castaño con alternancia de halos más oscuros y más claros, de consistencia firme y apariencia seca. El tamaño de las lesiones varió entre 1 – 4 cm diám. (Fig. 64). Las colonias que crecieron en medio agarizado fueron de color oscuro. Los conidios fueron oscuros, claviformes, con tres a cuatro tabiques transversales y algunos longitudinales (Fig. 65), los que correspondieron a *Alternaria* spp.

Para este síntoma, según la bibliografía, no se registran citas sobre las especies que actúan como agentes causales.



**Fig. 64.** Manchas circulares en fruto de berenjena causadas por *Alternaria* spp.



**Fig. 65.** Conidios de *Alternaria* spp. (100x), aislados de frutos de berenjena

*Phomopsis* spp.

Los frutos presentaron lesiones de 3 – 5 cm de diám., castaño oscuro, con evidencia de puntos negros grandes distribuidos en anillos concéntricos (Fig. 66).



Cuando los mismos se observaron con microscopio estereoscópico, se comprobó que fueron picnidios. Los preparados microscópicos evidenciaron la presencia de dos tipos de conidios: unos unicelulares, elipsoidales, hialinos y con una gútula refringente en cada extremo y otros filiformes y levemente curvados. Los mismos correspondieron a los conidios  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente, característicos de *Phomopsis* spp. (Fig. 67).



**Fig. 66.** Lesiones en frutos de berenjena, con evidencia de puntos negros, debidas a *Phomopsis* spp.



**Fig. 67.** Conidios  $\alpha$  y  $\beta$  de *Phomopsis* spp. (100x), observados en fruto de berenjena

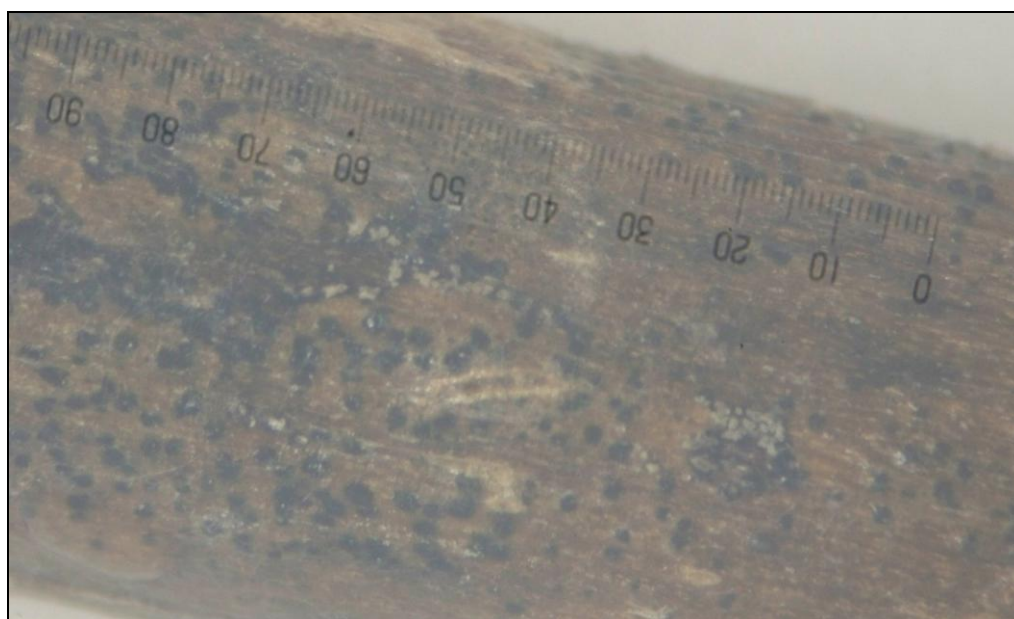
Los tallos presentaron lesiones de 5 – 10 cm long., con dos tonalidades, castaño oscuro en la zona donde se originó la lesión y claro en la zona de avance, con apariencia levemente hundida, límites netos y forma de v invertida (Fig. 68); se diferenciaron claramente del tejido sano. Con microscopio estereoscópico se

observaron grupos de picnidios (Fig. 69). Con el microscopio óptico se observaron los conidios  $\alpha$  y  $\beta$  de *Phomopsis* spp.

La especie asociada con la sintomatología en plantines es *Phomopsis vexans* (Islam & Meah, 2011).



**Fig. 68.** Lesión en tallo de berenjena causada por *Phomopsis* spp.



**Fig. 69.** Grupos de picnidios de *Phomopsis* spp., observados en tallo de berenjena

Colletotrichum spp.

Los frutos presentaron lesiones circulares de tamaño mediano de 3 cm diám., aproximadamente, pardas, delimitadas por un borde pardo oscuro, casi negro y la parte central con una apariencia hundida (Fig. 70). En el centro de la lesión, hubo presencia de acérvulos con setas. Los conidios fueron unicelulares, hialinos, alargados y levemente curvos. Se identificó al hongo como *Colletotrichum* spp. (Fig. 71).

Se ha citado en Argentina a *C. dematium*, como agente causal de lesiones en frutos de berenjena (Zapata, 2013).

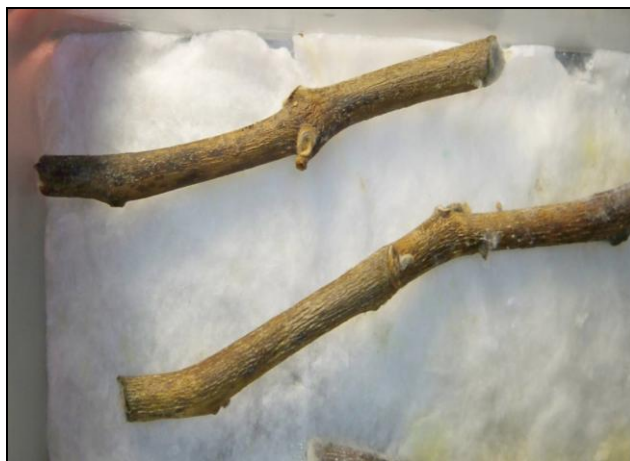


**Fig. 70.** Mancha en fruto de berenjena, con presencia de puntos negros (acérvulos), causada por *Colletotrichum* spp.



**Fig. 71.** Setas y conidios de *Colletotrichum* spp. (100x), observados en fruto de berenjena

Los tallos presentaron lesiones castaño oscuro o casi negro, con límites netos (Fig. 72), entre 3 – 5 cm long. Se observaron acérvulos con setas (Fig. 73) y conidios unicelulares, hialinos, alargados y levemente curvos. Estas características morfológicas correspondieron a *Colletotrichum* spp. (Fig. 74).

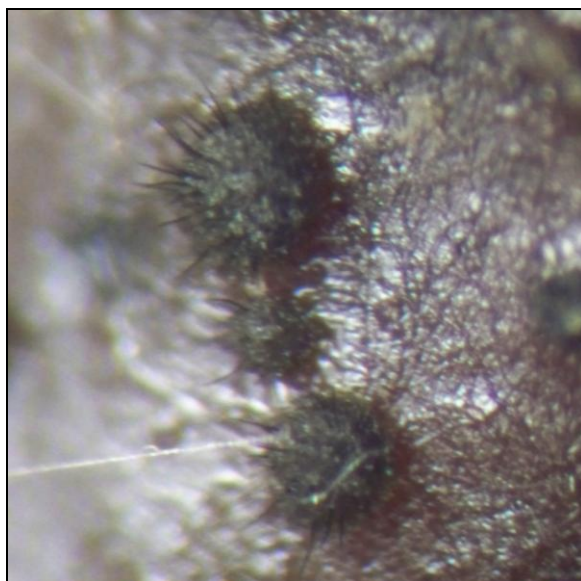


**Fig. 72.** Mancha en tallos de berenjena, causada por *Colletotrichum* spp.



**Fig. 73.** Acérvulos con setas de *Colletotrichum* spp. (100x), observados en fruto de berenjena





**Fig. 74.** Setas y condios de *Colletotrichum* spp., desarrollados en tallos de berenjena, incubados en cámara húmeda

*Phoma* spp.

Los frutos presentaron lesiones grandes, que pudieron involucrar gran parte de estos órganos. Fueron elipsoidales y en general comenzaron en la zona de unión con el pedúnculo y tuvieron alternancia de tonalidades de castaño (Fig. 75). En algunos casos, tuvieron presencia de puntos negros pequeños, distribuidos al azar en los tejidos muertos y las lesiones presentaron un aspecto hundido (Fig. 76).



**Fig. 75.** Lesión en fruto de berenjena causada por *Phoma* spp.



**Fig. 76.** Lesión en fruto de berenjena producida por *Phoma* spp.

En los tallos hubo manchas necróticas, castaño claro, con bordes definidos, que pudieron alcanzar más de 10 cm long. La lesión, con frecuencia, avanzó en forma de V unilateral y se observaron más de dos lesiones por planta. La presencia de puntos negros, tanto en el material fresco como en las cámaras húmedas, correspondió a los picnidios. Los conidios fueron hialinos, cilíndricos y algunos presentaron un septo transversal. Estas características permitieron identificar al microorganismo como *Phoma* spp.

Para estos síntomas, no se han identificado aún las especies que actúan como agentes causales.

#### *Verticillium* spp.

Las ramas de algunas plantas de berenjena estuvieron marchitas y presentaron hojas abigarradas (Fig. 77). Al realizar un corte transversal de los tallos, se evidenció una decoloración marrón claro de los vasos (Fig. 78).



**Fig. 77.** Hojas abigarradas de berenjena. Agente causal: *Verticillium* spp.



**Fig. 78.** Decoloración de vasos en tallo de berenjena debida a *Verticillium* spp.

En las cámaras húmedas desarrollaron conidióforos verticilados, hialinos, soportando 3 a 4 fiálides en cada nódulo y conidios elipsoidales, unicelulares y hialinos. Esta morfología correspondió a *Verticillium* spp.

La única especie citada como agente causal del marchitamiento en berenjena, pimiento, tomate y otros hospedantes es *Verticillium dahliae* (Koike *et al.*, 2007).



### Fusarium spp.

Se observaron plantas adultas de berenjena con una marchitez muy evidente y en algunos casos senescentes. La porción basal del tallo presentó una zona necrótica, castaño claro. Al realizar un corte transversal del mismo se observó en el interior una coloración castaño claro, que se diferenció del tejido sano. Las siembras de estas porciones de tejido en medio agarizado resultaron en el desarrollo de colonias blancas, las que produjeron conidios hialinos, algunos grandes, falcados, con varios septos y otros pequeños, ovales y unicelulares (Fig. 79). Ambos corresponden a *Fusarium* spp.

La especie identificada en Argentina, como agente causal de la podredumbre húmeda en berenjena, fue *F. proliferatum* (Matsuch) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg (Zapata, 2013).



**Fig. 79.** Conidios de *Fusarium* spp. (400x) aislados de tallos de berenjena

### **Zapallito**

#### Fusarium spp.

Las plantas de zapallito marchitas (Fig. 80), tuvieron lesiones castaño claro de aspecto papiráceo en la porción basal de los tallos (Fig. 81). También hubo podredumbre radicular. Los preparados microscópicos del signo evidenciaron la presencia de micro y macroconidios hialinos característicos de *Fusarium* sp.

Son numerosas las especies del género que pueden producir síntomas en hospedantes de la familia Cucurbitáceas; *F. graminun*, *F. acuminatum*, *F. culmorum*, *F. moniliforme*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. scirpi* y *F. solani*. Sin embargo, los síntomas producidos (lesiones secas y con punteaduras) coinciden con los descritos para *F. acuminatum* (Zitter *et al.*, 2004).

Las especies de *Fusarium* forman un complejo con *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. y *Rhizotocnia solani* que produce podredumbre de raíces en estos hospedantes.



**Fig. 80.** Marchitamiento de plantas de zapallito causado por *Fusarium* spp.



**Fig. 81.** Lesiones en la porción basal de tallos de zapallito causadas por *Fusarium* spp.

## **Zucchini**

### *Phoma* spp.

Los frutos presentaron lesiones en la porción en contacto con las cicatrices florales (Fig. 82). Fueron de aspecto gomoso, con presencia de anillos de color pardo oscuro y de puntos negros (Fig. 83). Los mismos fueron picnidios en los que hubo conidios hialinos, elipsoidales y unicelulares. Esta morfología correspondió a *Phoma* spp.

Según la bibliografía, *P. cucurbitacearum* es la única especie reportada para este hospedante (Zitter *et al.*, 2004).





**Fig. 82.** Lesión en la porción distal de fruto de zucchini causada por *Phoma* spp.



**Fig. 83.** Lesión en fruto de zucchini, con presencia de puntos negros causada por *Phoma* spp.

## Tomate

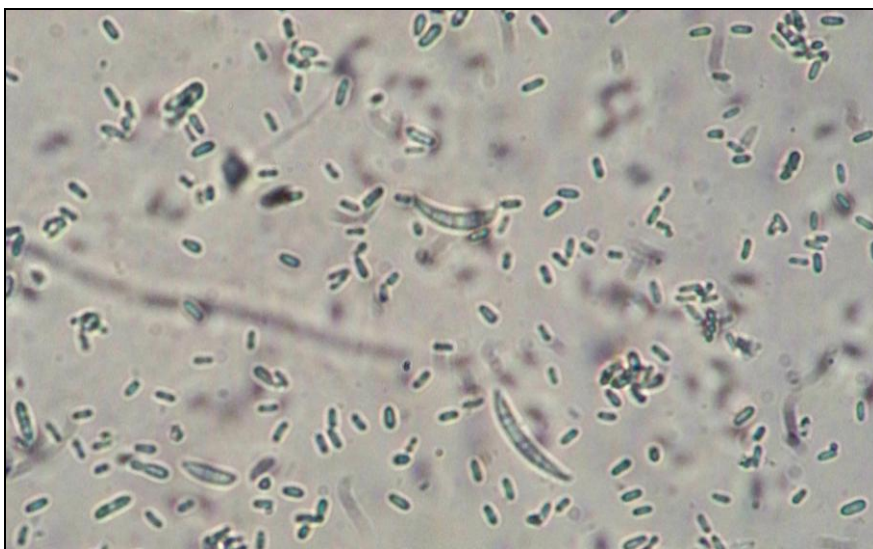
### Fusarium spp.

En la porción basal de los tallos se observaron lesiones necróticas de gran tamaño, castaño claro. En las cámaras húmedas, al cabo de una semana, proliferó un moho blanquecino laxo, que cubrió toda la superficie (Fig. 84). Los preparados microscópicos del signo evidenciaron la presencia de micro y macroconidios hialinos (Fig. 85) característicos de *Fusarium* sp.

La única especie reportada como agente causal de la podredumbre de raíces y de corona de tomate es *F. oxysproum* Schlechtend.: Fr. *F. sp. radicis-lycopersici* (Jones *et al.*, 1991).



**Fig. 84.** Tallo de tomate con micelio de *Fusarium* spp.



**Fig. 85.** Conidios de *Fusarium* spp. aislados de tallos de tomate

## Pimiento

### Colletotrichum spp.

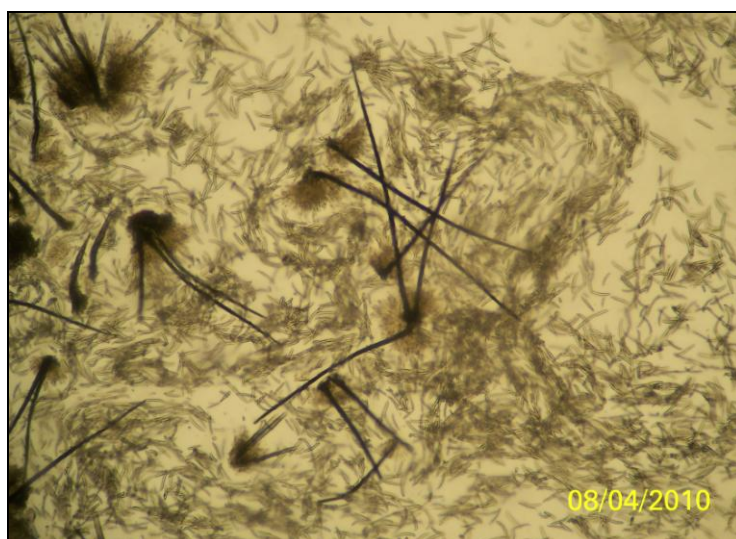
En los frutos se observó la presencia de una lesión necrótica grande, de forma irregular, negra, con apariencia seca, límites netos (Fig. 86) que involucró gran parte del órgano. En la parte central se formaron anillos concéntricos negros. Hubo presencia de acérvulos con setas y los conidios fueron hialinos, unicelulares, alargados y algo curvos. Se trató de las estructuras características de *Colletotrichum* spp. (Fig. 87).

Más de una especie puede estar asociada con un solo hospedante: *C. gloeosporioides* (Penz.), *C. capsici* (Syd.), *C. coccodes* (Wallr.) y posiblemente otras (Pernezny *et al.*, 2003).





**Fig. 86.** Lesión en fruto de pimiento causada por *Colletotrichum* spp.



**Fig. 87.** Setas y conidios de *Colletotrichum* spp. (400x) producidas en frutos de pimiento

#### **IV.10. Diferencias entre los síntomas producidos por *Phytophthora* spp. y por otros patógenos, en cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas**

En los cultivos de interés, berenjena, zapallito, tomate y pimiento, los síntomas producidos por las especies de *Phytophthora* - podredumbres húmedas - se pudieron diferenciar de las otras patologías, según: la clase de órgano que fue



afectado (frutos, tallos y brotes), la forma, el aspecto, el color de las lesiones y / o la ubicación en la planta.

También, en algunos casos, estas patologías se diferenciaron de *Phytophthora* spp., por la producción de signos, fructificaciones, que se evidenciaron mediante la simple observación en el campo.

Las lesiones producidas en los frutos de berenjena por los diferentes patógenos, se diferenciaron claramente de las debidas a *Phytophthora* spp. porque estas fueron lesiones castaño claro, con un patrón de crecimiento irregular, ausencia de anillos concéntricos y de puntos negros. Además, cuando la humedad fue elevada, el signo de *Phytophthora* spp. estuvo formado por un moho blanco parduzco que cubre casi toda la lesión, el que estuvo constituido por micelio y zoosporangios. En el caso de *Phomopsis* spp., *Phoma* y *Colletotrichum* spp., hubo presencia de puntos negros.

En los tallos de berenjena, no fue posible diferenciar los síntomas producidos por las diferentes patologías que los afectan, con la excepción de *Fusarium* spp y de *Verticillium* spp.

Las lesiones producidas por *Fusarium* spp. estuvieron ubicadas a nivel basal, tal como ocurre en los demás hospedantes donde incidió, mientras que las lesiones producidas por *Phytophthora* spp. se presentaron en las porciones medias y altas de la planta.

El marchitamiento de las ramas producido por *Verticillium* spp. se diferenció de *Phytophthora* spp., básicamente, por la presencia de hojas abigarradas.

En el cultivo de berenjena, donde se detectaron la mayor cantidad de patologías, se pudieron establecer, además, diferencias entre los síntomas de acuerdo con el momento del ciclo del cultivo en que se presentaron, con la excepción de *Alternaria* spp. Al comienzo de la fructificación, se observaron mayoritariamente síntomas en frutos producidos por *Phytophthora* spp. Durante todo el período se observó un marchitamiento de los tallos causado por *Verticillium* spp. Avanzada la estación del cultivo se encontró una mayor proporción de tallos que de frutos, colonizados por *Phytophthora* spp. y eventualmente por *Phoma* spp. En los

frutos también se evidenciaron lesiones causadas por *Colletotrichum* spp. y al finalizar la estación se observaron casos de necrosis causadas por *Phomopsis* spp. y *Phoma* sp. (Iribarren *et al.*, 2011).

En los tallos de zapallito, las lesiones producidas por *Fusarium* spp. se diferenciaron claramente de las producidas por *P. capsici* por el aspecto papiráceo y el color blanco de las primeras.

Las lesiones producidas por *Phoma* sp. en los frutos de zucchini, fueron de color castaño oscuro, con presencia de anillos y puntos negros como signo, correspondientes a los picnidios del hongo, mientras que *Phytophthora* spp. produjo lesiones aguanosas verde oscuro.

En los tallos de tomate, las lesiones producidas por *Fusarium* spp. pudieron diferenciarse, por la presencia frecuente de un moho blanquecino laxo en la superficie de la lesión y por el color marrón oscuro del tejido vascular, al realizar un corte transversal del tallo. En el caso de *Phytophthora* spp., la lesión fue superficial.

En los frutos de pimiento afectados por *Colletotrichum* spp. también se diferenciaron de los colonizados por *Phytophthora* spp. porque los primeros presentaron un aspecto seco, pero además permanecieron discretas, aún cuando se incrementó el número de lesiones por fruto. *Phytophthora* spp. produjo lesiones aguanosas, las que rápidamente cubrieron todo el fruto.

# DISCUSIÓN

## V. DISCUSIÓN

### V.1. Distribución del género *Phytophthora* y en particular de *P. capsici*

El número de especies del género *Phytophthora*, que fueron citadas en distintas localizaciones geográficas a nivel mundial, se ha incrementado en los últimos años, como lo ilustran los registros de las bases de datos de especies de *Phytophthora*, disponibles en las websites. Tal es el caso de **Phytophthora Data Base** (<http://www.phytophthoradb.org/>), donde el número de especies de *Phytophthora* formalmente descriptas pasó de 116, en marzo de 2014, a 123 especies, en marzo de 2015. Por su parte, el **Index Fungorum** (<http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>), registró un incremento de 209 a 270, incluyendo a las especies subespecies y variedades, para el mismo período.

Las especies de *Phytophthora* que afectan a los hospedantes de interés: pimiento, berenjena, tomate y zapallito, son 12 (Erwin & Ribeiro, 1996) (tabla VI.1). De estos hospedantes, el tomate es el que presenta mayor número de especies de *Phytophthora* (once), seguido por el zapallito y la berenjena (seis) y por último el pimiento (cinco). Mientras que en todos los hospedantes estuvieron presentes: *P. capsici* y *P. nicotianae*.

**Tabla VI.1.** Especies de *Phytophthora* citadas para los hospedantes de interés, a nivel mundial (Erwin & Ribeiro, 1996)

Especies de <i>Phytophthora</i> X Hospedante	Solanáceas			Cucurbitáceas
	Pimiento	Berenjena	Tomate	Melón y Pepino
<i>P. arecae</i>			x	
<i>P. cactorum</i>	x			x
<b><i>P. capsici</i></b>	x	x	x	x
<i>P. cinnamomi</i>			x	
<i>P. citricola</i>			x	
<i>P. citrophthora</i>	x		x	x
<i>P. cryptogea</i>		x	x	x
<i>P. drechsleri</i>		x	x	x
<i>P. infestans</i>		x	x	
<i>P. mexicana</i>			x	
<b><i>P. nicotianae</i></b>	x	x	x	x
<i>P. palmivora</i>	x	x	x	

En Argentina, al presente son 21 las especies de *Phytophthora* citadas (Nome *et al.*, 2014), de las cuales solamente seis corresponden a los cultivos de interés (*P. capsici*, *P. nicotianae*, *P. drechsleri*, *P. cryptogea*, *P. citrophthora* y *P. infestans*), por lo tanto alcanzan al 50 % de las registradas en Erwin & Ribeiro (1996), para estos hospedantes, a nivel mundial.

Desde la primera identificación de *P. capsici* como patógeno de pimiento en Buenos Aires, realizada por Lindquist (1932), este patógeno ha sido citado ampliamente, formando diferentes patosistemas (Nome *et al.*, 2014). Estas citas corresponden a un área extendida del país, desde Formosa a Río Negro, entre los paralelos de 22° y 46° de Latitud Sur. En el caso del pimiento, esta área se extiende desde el norte (Formosa, Jujuy, Salta, La Rioja, Catamarca y Tucumán), el litoral (Santa Fé y Corrientes), el centro (Mendoza, San Juan, San Luis, Córdoba, La Pampa y Buenos Aires) hasta Neuquén y Río Negro. En zapallito, desde Córdoba, Buenos Aires, Mendoza, Neuquén hasta Río Negro. En zucchini, en Buenos Aires, Neuquén y Río Negro. En tomate, desde Corrientes, San Juan, Buenos Aires, Mendoza a Neuquén y Río Negro. En berenjena, en Córdoba, Buenos Aires, Mendoza, Río Negro y Neuquén (Nome *et al.*, 2014).

**\* Las identificaciones de *P. capsici*, en tomate, berenjena (Solanáceas) y zucchini (Cucurbitáceas), en Buenos Aires, resultado del presente estudio, constituyen las primeras citas para estos hospedantes en la mencionada provincia de la región pampeana.**

**\* Del mismo modo, entre las especies identificadas en estos cultivos, *P. drechsleri* constituye la primera cita para la berenjena en el país, y la primera cita para el pimiento, en el país y a nivel mundial.**

## V.2. Descripción de la zona de muestreo

El marco donde se llevó a cabo la investigación presentó algunos aspectos generales que es necesario destacar, *a priori*, para poder comparar los resultados obtenidos, respecto de otros sitios geográficos con antecedentes de *P. capsici*, tanto a nivel nacional como mundial.

Las características socioeconómicas y productivas de las quintas que integraron la zona de muestreo (en el noreste de Buenos Aires), fueron: su dinamismo, la diversificación de cultivos, la producción simultánea de diversos hospedantes de interés y la atomización de los productores en el espacio geográfico, como consecuencia de la inestabilidad en la tenencia de la tierra lo que implicó una elevada movilidad entre un año y otro. Ocurrió, por ejemplo, que el productor Choque de Luján abandonó la quinta al segundo año de muestreo. De allí la dificultad para obtener un dato preciso de la importancia relativa de los cultivos presentes en cada localidad. Pese a esto, sobre la base de los registros disponibles del Programa de Cambio Rural del INTA y de las visitas realizadas al campo, se comprobó que los cultivos de interés más importantes a cielo abierto fueron el zapallito y la berenjena, seguidos por el tomate y el pimiento, en menor proporción. La producción de estos dos últimos se realiza mayormente bajo cubierta, dada su mayor rentabilidad. Sin embargo en la zona de muestreo esta modalidad no fue importante y además, como implica una modificación en las condiciones del ambiente del patógeno, no fue considerada.

Las variables de suelo y de clima en las tres localidades muestreadas no presentaron diferencias relevantes. Esto tuvo que ver con la escala de trabajo utilizada (700 km<sup>2</sup>) y con la topografía plana del lugar, que contribuyó a la homogeneidad del área de muestreo (com. pers.: Moscchini, R.).

Las características de los suelos presentes en la región; de textura limosa a franco arcillo limosa, con dificultad para el drenaje en las partes bajas del relieve, favorecieron la acumulación de agua en superficie y por lo tanto, la dispersión vertical ascendente del patógeno por medio del aerosol que produce la lluvia, en los cultivos realizados al aire libre.



A su vez, el tipo de arcillas presentes en estos suelos, de tipo montmorilloníticas, con propiedades expansivas, dificulta aún más el drenaje de agua en estos cultivos.

El registro de la precipitación anual acumulada para el 2010 (1047 mm) estuvo 52 mm por debajo del promedio histórico, mientras que el registro del 2011 (876 mm) fue de 223 mm menos que este promedio. Esta diferencia en las precipitaciones acumuladas, de 171 mm, entre ambos años de muestreo, fue de 123 mm cuando se analizó el período (enero - abril) en el que se detectó la presencia de *Phytophthora* spp. La misma tendencia se reflejó cuando se analizó la diferencia en el número de eventos de precipitación cuya intensidad fue mayor a 20 mm; 10 para el 2010 y 8 para el 2011. Estas precipitaciones son las efectivas para el desarrollo de la enfermedad (Ristaino, 1991), de acuerdo con el modo de dispersión de estos patógenos (Erwin & Ribeiro, 1996).

Fue demostrado que la lluvia es el factor ambiental más influyente en el progreso y la incidencia de la enfermedad (Bowers *et al.*, 1990), y tanto el agua libre como el impacto del agua sobre el suelo parecen ser necesarios para el desprendimiento y la dispersión de los zoosporangios (Granke *et al.*, 2009). Sin embargo, dado que en la zona de muestreo el agua de riego es adicionada de forma indiscriminada en los cultivos, las precipitaciones no deben ser analizadas de forma aislada.

Bowers & Mitchell (1990), estudiando los efectos del potencial mátrico del agua de suelo y el efecto de los períodos de inundación, sobre la mortalidad de pimientos causada por *P. capsici*, encontraron que las lluvias intensas y la subsecuente inundación del suelo están asociadas con incrementos en el progreso de la enfermedad. En adición, Bowers *et al.*, (1990), a partir de observaciones de campo realizadas en Florida confirmaron que el número de días con precipitaciones, en conjunto con períodos de inundación, son factores de importancia crítica para el incremento de la enfermedad, ya que actúan como vehículo para la dispersión del inóculo. Del mismo modo, Granke *et al.*, (2009), en estudios de laboratorio en Michigan, donde investigaron los mecanismos de dispersión de los zoosporangios de *P. capsici*, encontraron que solamente las lluvias tuvieron asociación estadísticamente significativa con la dispersión del patógeno, a diferencia de otras especies de *Phytophthora* (como *P. infestans*), donde el viento juega un papel preponderante.

En el Sudeste de Florida (Estados Unidos), Ploetz *et al.*, (2002) también encontraron que la lluvia fue un factor predisponente de los peores brotes epifíticos de la enfermedad causados por *P. capsici*; sin embargo, comprobaron que la incidencia de la enfermedad se incrementó en forma dramática cuando se presentaron conjuntamente otros factores; temperaturas óptimas y/o el efecto de prácticas de manejo favorables para la formación de las oosporas.

Una vez que se inicia el ciclo de la infección, la velocidad del desarrollo de la enfermedad depende de la temperatura óptima para el crecimiento del patógeno, que a su vez determina la generación de las fuentes de inóculo secundario (Fry, 1982).

En nuestro estudio, las temperaturas medias para el período de muestreo fueron próximas a 20 °C, las temperaturas máximas medias mensuales fueron: 30,5 °C para 2010 y de 32,5 °C para 2011 y las mínimas medias mensuales fueron: 9,1 °C para 2010 y 10,8 °C para 2011 (Anexo 6). Estos valores se aproximan a los rangos de temperatura de crecimiento del patógeno; la mínima es 10 °C, la óptima es 28 °C y la máxima es > 35 °C (Erwin & Ribeiro, 1996). Estas temperaturas también se acercan a las temperaturas de crecimiento de *P. nicotianae* y *P. drechsleri*, que citan los mismos autores.

Por otro lado, las condiciones climáticas tienen influencia sobre los síntomas expresados en las plantas, de acuerdo con lo expuesto por Lamour (2013). Bajo climas áridos y semiáridos del Sudoeste de Estados Unidos, los síntomas en pimiento, en la porción subterránea de las plantas son más comunes, mientras que los síntomas en hojas, tallos y frutos son encontrados en sistemas de producción con irrigación o a continuación de las lluvias monzónicas de verano. Tal situación, fue la observada en nuestra zona de estudio, al NE de Buenos Aires, donde los síntomas expresados en los hospedantes de interés correspondieron a los frutos, los tallos, los brotes y / o plantines. Por su parte, en la región centro oeste de Argentina, cuyo clima es desértico, Gobena *et al.* (2012) al analizar muestras de cultivos de pimiento, observaron la ocurrencia de podredumbre de raíces. Empero, en la región costera de Carolina del Norte, cuyo clima es subtropical húmedo, similar al del NE de Buenos Aires, Ristaino *et al.*, (1994) en cultivos comerciales de pimiento observaron, primariamente, la infección de raíces y la subsecuente colonización de las coronas y,

con menos frecuencia y más tarde en la estación de crecimiento, lesiones en los tallos, sin detectar la presencia en frutos ni en hojas.

Asimismo, la expresión de los síntomas permite hacer inferencias sobre los mecanismos de dispersión que utiliza el patógeno, tal como fue sugerido por Bowers *et al.*, (1990); Café Filho & Duniway, (1995); Ristaino *et al.*, (1993) y Ristaino & Johnston (1999), en suelos infestados naturalmente. En este sentido, se deduce que el mecanismo predominante para los patosistemas estudiados es el efecto de la gota de lluvia.

El manejo agronómico de los cultivos a nivel local, con la implantación simultánea de hospedantes susceptibles en una misma unidad productiva y la presencia recurrente de malezas, que pueden actuar como hospedantes alternativos, presenta un escenario favorable para la supervivencia del patógeno. Sobre este último aspecto, Ploetz & Haynes (2000), demostraron en Florida que algunas malezas pueden actuar como reservorio del inóculo, mientras que otras pueden tener efectos favorables al reducir la dispersión del inóculo por medio de las gotas de agua; tal es el caso de las gramíneas. Entre las malezas que fueron examinadas por estos autores como posibles hospedantes alternativos para el patógeno, solo una, *Portulaca oleracea*, fue colonizada por *P. capsici*.

French-Monar *et al.* (2006) también demostró el potencial de algunas malezas dicotiledóneas como hospedantes alternativos. Mediante un trabajo extenso caracterizó a aislamientos de *P. capsici* asociados con raíces de malezas en cultivos hortícolas de Florida. Encontró como hospedantes alternativos a: *Geranium carolinianum*, *Solanum americanum*, *Portulaca oleracea*, *Solanum nigrum*, *S. ptycanthum*, *S. carolinense* y *S. capsicoides*. Todas, excepto *S. ptycanthum* y *S. capsicoides* presentaron diferentes niveles de colonización de raíces y *Solanum nigrum* fue la única especie donde *P. capsici* produjo un 100 % de mortalidad.

Entre éstas, *Portulaca oleracea* (verdolaga) fue también una maleza prevalente en la nuestra zona de estudio durante el período de muestreo, pero además existieron otras de los géneros citados como *S. sysimbriifolium* (espina colorada) que podrían constituir fuentes potenciales de inóculo primario.

La práctica de riego común en la zona, que no se adecua a las necesidades de los cultivos, favorece la dispersión del patógeno. En la mayoría de los casos, los

volúmenes aplicados son excesivos. Esto, sumado al drenaje lento de los suelos, hace que se acumule agua en los entresurcos, aún con lluvias de poca intensidad.

La inadecuada fertilización orgánica, mediante la introducción de las enmiendas que resultan de la producción avícola, sin compostaje, y sin presentar un balance de Carbono / Nitrógeno que se ajuste a las necesidades del cultivo, también puede jugar un rol favorable para el desarrollo de la enfermedad, al afectar la susceptibilidad de las plantas.

Otra característica de la zona es que durante la cosecha, los frutos enfermos se dejan en los entresurcos, no se eliminan. De ese modo, cuando se acumula agua en los mismos, se produce inmediatamente una suspensión de zoosporangios, que es dispersada desde allí a las partes altas de las plantas por el efecto de la gota de lluvia.

En cuanto a la aplicación de fungicidas, ésta es poco eficiente, tanto por las herramientas de aplicación que se utilizan en el campo como por la falta de asesoramiento. En general se aplican fungicidas de amplio espectro y sin realizar un diagnóstico previo de las enfermedades presentes.

### V.3. Muestreo

En la zona estudiada, no hubo asociación entre la presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. y los dos años de muestreo, probablemente debido a que las condiciones agroclimáticas no variaron en forma considerable. El agua estuvo siempre disponible para el cultivo, como ya se indicó, ya sea por la lluvia y / o el riego, sumada a la presencia de suelos con elevada capacidad de retención hídrica y a las condiciones de temperatura durante la etapa reproductiva de los cultivos, que fueron favorables para el desarrollo de *Phytophthora*. Por otro lado, la variabilidad observada en la severidad de los aislamientos de *P. capsici* inoculados en los frutos de los hospedantes de interés, independientemente del hospedante afectado, demuestra el potencial patogénico de los aislamientos obtenidos en la zona.

Tampoco hubo asociación entre la presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. y la **localidad**, lo que tuvo que ver con la escala del muestreo (700 km<sup>2</sup>), la que determinó que las distancias entre los puntos de muestreo no superen los 45 km,

aproximadamente, y por lo tanto que las características del suelo y de la topografía no varíen considerablemente. Se asume que para poder comparar ambientes geográficos, éstos deben estar separados en al menos 80 km, lo que por supuesto, también depende de las irregularidades del terreno (com. pers. Moscchini, R.).

En cuanto a la asociación con el **productor**, en este caso debieron haber intervenido las características intrínsecas de los mismos (su historial), el manejo llevado a cabo en la quinta y las variedades empleadas en cada caso.

La asociación observada con los **hospedantes**, tuvo que ver con las características anatómicas y genéticas de los mismos; el cultivo de zapallito es rastrero y los tallos no están lignificados, mientras que los hospedantes de la familia Solanáceas tienen un porte erecto y poseen tallos lignificados.

La asociación encontrada con el **órgano** afectado también se puede explicar por la composición de los tejidos que los componen. Así, el **fruto**, cuyo principal componente es el agua fue el órgano más afectado en todos los hospedantes.

La elevada prevalencia de *Phytophthora* spp. en el cultivo de zapallito, en los dos años de muestreo, cercana al 50 %, podría estar asociada a la susceptibilidad de la única variedad comercial empleada y a la estructura del cultivo. En los otros hospedantes, se utilizó una mayor diversidad de variedades implantadas, pero aún así la prevalencia se incrementó, con la excepción del caso del cultivo de berenjena, donde ésta se redujo casi a la mitad.

La prevalencia está muy relacionada con la incidencia, ya que la prevalencia depende de la incidencia y de la supervivencia del patógeno. No obstante, la determinación de la prevalencia es la primer aproximación para conocer cuál es la magnitud global del problema (Lui, 2004; Madden *et al.*, 2007).

La estrategia de muestreo, para una u otra cuantificación, implica la obtención de muestras en determinados momentos del ciclo del cultivo, con una frecuencia y en condiciones que difieren en ambos casos, y por lo tanto también los recursos empleados. A su vez, dado que el muestreo consume recursos, es importante que la información epidemiológica obtenida a partir del mismo sea confiable, mientras hacemos un uso eficiente de los recursos disponibles (Madden *et al.*, 2007). Por esto, el diseño de muestreo del presente estudio solo comprendió la determinación de la prevalencia.

La tasa epidemiológica de las enfermedades está influida ampliamente por las características de la población hospedante y del ambiente (Fry, 1982). Por consiguiente, la práctica común en la zona, de implantación de cultivos con especies susceptibles en una misma explotación, en una misma época del año, junto con un período acotado libre de cultivos susceptibles, favorece la generación del inóculo del patógeno y su supervivencia. Todo lo cual, hace suponer que una vez introducido el microorganismo en el suelo, éste se naturalice, afectando nuevas plantaciones. Esta situación, fue comprobada para el caso del cultivo de berenjena, en muestreos realizados en un mismo lote, entre 2012 – 2015, en General Rodríguez y Luján, *a posteriori* del presente estudio (com. pers. Litardo, C.).

Dado que se han realizado monitoreos para detectar la enfermedad desde la implantación de estos cultivos y que los síntomas se evidenciaron con mayor frecuencia a partir de la etapa reproductiva, en frutos y en tallos, es posible asumir que *P. capsici* tiene mayor incidencia en la zona en el momento de la fructificación. Esto mismo fue observado por Alegbejo *et al.*, (2006), en cultivos de pimiento en Nigeria afectados por la podredumbre basal del tallo causada por esta especie. Por su parte, Sanogo (2006) cuando estudió el comportamiento de plantas de pimiento en distintas etapas de desarrollo, sometidas a períodos de saturación del suelo, encontró que el estado de madurez de la planta tuvo un efecto significativo sobre la severidad de la enfermedad, mientras que la saturación del suelo fue indiferente.

#### V.4. Identificación de las especies de *Phytophthora*

*P. capsici* fue la especie predominante en todos los hospedantes muestreados, con la excepción del tomate y la única especie identificada para zapallito. En el caso del tomate, predominó *P. nicotianae*. Estos resultados están de acuerdo con los antecedentes de patogenicidad para Solanáceas y Cucurbitáceas (Jones *et al.*, 1991; Pernezny *et al.*, 2003; Zitter *et al.*, 2004).

El rango de medidas de los zoosporangios de *P. capsici* fue menos variable que el obtenido previamente por Frezzi (1950) en Argentina, y se aproximó al reportado por Mchau & Coffey (1995). En el presente trabajo, el largo varió de 23 -

58  $\mu\text{m}$ , el ancho de 14 - 41  $\mu\text{m}$ , la relación largo / ancho de 1,1 - 2 ( $X = 1,6$ ) y el largo del pedicelo entre 22 - 69,7  $\mu\text{m}$ . En la descripción de las especies de *Phytophthora* realizada por Frezzi, los zoosporangios de *P. capsici* midieron: 28 - 123  $\mu\text{m}$  de largo por 21 - 50  $\mu\text{m}$  de ancho, tuvieron una relación largo ancho de: 1,7 y el largo del pedicelo fue  $\leq 75$   $\mu\text{m}$ . Mientras que en Mchau & Coffey (1995) las dimensiones variaron de 33 - 66  $\mu\text{m}$  de largo por 17 - 39  $\mu\text{m}$  de ancho, la relación largo / ancho fue de 1,3 - 2,1 y el largo del pedicelo varió entre 35 y 138  $\mu\text{m}$ . Por el contrario, los rangos de mediciones determinados por Granke *et al.*, (2011) a partir de un grupo de 124 aislamientos de *P. capsici* provenientes de 12 países distribuidos en todo el mundo resultaron ser más acotados. El largo varió de 38 - 60, el ancho de 23 - 35, la relación largo / ancho de 1,34 - 2,07 y el largo del pedicelo de 20 - 260  $\mu\text{m}$ , que fue la excepción.

La forma de los zoosporangios fue variable; desde obpiriforme, limoniforme, obovoide a ovoide, como fue reportada también por aquellos autores. Esta variabilidad es influenciada por varios factores: la composición del medio de cultivo, la aireación, la luminosidad y hasta las características genéticas del microorganismo (Erwin & Ribeiro, 1996).

El diámetro medio de los oogonios varió de 25 - 37  $\mu\text{m}$ , un rango próximo al reportado por Ristaino (1990); de 24,8 - 33,4  $\mu\text{m}$ , para aislamientos de pimiento. La identificación de un solo tipo de apareamiento, A1, en la zona NE de Buenos Aires coincide con los resultados de la investigación de Gobena *et al.*, (2012) a partir de aislamientos de pimiento en la zona centro oeste del país, en la que el clima es desértico, mientras que en nuestra zona de estudio es templado húmedo, condiciones que aunque son contrastantes, no tuvieron influencia en el tipo de apareamiento presente y por lo tanto en la proporción de los tipos de apareamiento. El tipo de apareamiento A2, que fue determinado solo en un aislamiento de *P. nicotianae* en una proporción de 1 a 8 (A1/A2) presenta un escenario diferente para esta otra especie, en cuanto a la capacidad para reproducirse sexualmente.

Los aislamientos identificados morfológicamente como *P. capsici*, *P. nicotianae* y *P. drechsleri* coincidieron con los aislamientos identificados mediante el análisis molecular.

El método de identificación molecular permitió identificar a *P. cryptogea* (un solo aislamiento), además de las especies mencionadas, aunque este aislamiento



no pudo ser incorporado en la muestra de aislamientos identificada sobre la base de las características morfológicas. La única característica que diferencia a *P. cryptogea* de *P. drechsleri* es la habilidad de esta última para crecer a 35°C. En este caso, las técnicas moleculares de secuenciación constituyen una herramienta útil para separarlas (Cooke *et al.*, 2000).

#### V.5. Sensibilidad al Metalaxil

La sensibilidad al Metalaxil, con una concentración de 100 ppm, establecida para una serie de aislamientos de *P. capsici* representativos de la zona de estudio (incluyendo aislamientos provenientes de las tres localidades, los cuatro hospedantes y órganos afectados), posiblemente esté asociada a la presencia detectada de un solo tipo de apareamiento. Bajo esas circunstancias, la reproducción sexual está condicionada, y con esto el potencial para generar resistencia al metalaxil (Lamour & Hausbeck, 2000). Estos datos son coincidentes con los hallados por Gobena *et al.* (2012) en la región de Cuyo, con aislamientos provenientes de pimiento.

En España, Silvar *et al.* (2006) también observaron la presencia de un solo tipo de apareamiento, A1 y un alto porcentaje de aislamientos sensibles del metalaxil.

En Estados Unidos, son extensos los reportes de resistencia al metalaxil de aislamientos de *P. capsici*, así como de otras especies del género, junto con la presencia de ambos tipos de apareamiento (Lamour, 2013). En Carolina del Norte, Parra & Ristaino (2001), a partir de una muestra de 150 aislamiento de *P. capsici* provenientes de cultivos de pimiento, encontraron que la mayoría fueron resistentes al metalaxil y dentro de este grupo detectaron la presencia de ambos tipos de apareamiento. Lo mismo se registró en poblaciones de *P. capsici* en Michigan, a la misma concentración (Lamour & Hausbeck, 2000).

La resistencia al metalaxil es un carácter fenotípico estable del patógeno, como fue demostrado por Lamour & Hausbeck (2000) en Michigan, a partir de una población de aislamientos de *P. capsici*. Estos autores, mediante una serie de

cruzamientos entre aislamientos sensibles y resistentes, identificaron un gen de resistencia simple, parcialmente dominante, de gran efecto. Además, el análisis de poblaciones con una alta diversidad genética para este gen, parece indicar que es poco probable que las que son resistentes reviertan para ser sensibles (Lamour & Hausbeck, 2001).

Los fungicidas químicos que proveen un efectivo control de la enfermedad son limitados, teniendo en cuenta la notable habilidad de *P. capsici* para desarrollar resistencia a los mismos (Lamour & Hausbeck, 2000; Café-Filho & Ristaino, 2008; Jackson, 2010). Por lo tanto, la resistencia del hospedante es un componente clave para el control del patógeno a largo plazo, aunque los avances en este sentido todavía son limitados (Yin *et al.*, 2012). Actualmente, en Michigan, ningún cultivar comercial de pimiento, de tomate o de Cucurbitáceas ha demostrado resistencia a los aislamientos de *P. capsici* evaluados (Foster & Hausbeck, 2010; Holmes *et al.*, 2001; Quesada-Ocampo & Hausbeck, 2010). Solo se ha detectado resistencia en una línea de mejoramiento de pimiento (Criollo de Morelos) y otras de berenjena (Foster *et al.*, 2013), pero dada la variabilidad que presentan los aislamientos de *P. capsici*, en cuanto a su agresividad, es necesario que las mismas sean evaluadas con aislamientos representativos de una mayor distribución geográfica (Glosier *et al.*, 2008; Quesada-Ocampo & Hausbeck, 2010; Yin *et al.*, 2012).

#### **V.6. Patogenicidad y virulencia de los aislamientos de *P. capsici***

El ciclo de la enfermedad debida a un patógeno incluye la historia de vida del mismo en asociación con su hospedante (Ristaino & Gumpertz, 2000). Por lo tanto, la asociación de *P. capsici* con dos o más cultivos diferentes (zapallito, pimiento, tomate y berenjena, en una misma unidad de producción), como fue demostrado, es un rasgo que potencia su comportamiento como patógeno, ya que en la misma estación de cultivo se multiplican las fuentes de inóculo. A su vez, el reporte de *P. capsici* en los cuatro hospedantes es en sí mismo, un marcador de la capacidad adaptativa del patógeno (Mchau & Coffey, 1995; Tamietti & Valentino, 2001).

La falta de diferencias en la expresión de los síntomas en zapallito, berenjena, tomate y en pimiento, cuando se realizaron las inoculaciones cruzadas con aislamientos de *P. capsici* provenientes de tales hospedantes, coincide con los resultados obtenidos por otros autores. Así fue demostrado por Isakeit (2007) con aislamientos provenientes de calabaza, los que fueron inoculados en chiles y por Kreutzer *et al.*, (1940), con aislamientos provenientes de calabacín inoculados en sandía y viceversa.

En cuanto a la virulencia de los aislamientos de *P. capsici* analizados, la variabilidad observada está de acuerdo con los resultados de otros estudios a nivel mundial. Yin *et al.* (2012), en Georgia, evaluaron la agresividad de una serie de 49 aislamientos de *P. capsici*, obtenidos a partir de tejidos de raíces, tallos y frutos, de pimiento, sandía, calabacín, melón, pepino y zucchini, en 6 genotipos de pimiento. Los mismos provinieron de lotes de producción comercial de diferentes estados de Georgia y tuvieron una proporción de tipos de apareamiento, A1 / A2, próxima a 1:1. Como resultado de esta evaluación, demostraron que los aislamientos difirieron en su agresividad en los diferentes cultivares de pimiento analizados, con 10 patotipos identificados. Georgia es una de las áreas hortícolas más importantes de Estados Unidos; de clima templado húmedo, que favorece el crecimiento de los cultivos y también el desarrollo de las podredumbres causadas por *Phytophthora* spp.

Del mismo modo, Glosier *et al.* (2008) determinaron 14 razas fisiológicas de *P. capsici*, basados en la susceptibilidad de 11 genotipos de pimiento y Sun *et al.* (2008) identificaron 7 patotipos en la costa oriental de China, lo que sugiere la existencia de variación en la virulencia de aislamientos de *P. capsici*.

Por otro lado, cuando se evaluó la patogenicidad en los plantines de los hospedantes de interés, a diferencia de lo ocurrido con los frutos inoculados, se observó que en la berenjena, ninguno de los aislamientos de *P. capsici* analizados resultaron ser patógenos, de acuerdo con los hallazgos obtenidos por Walker & Bosland (1999) y Sey & Bosland (2005). Estos autores determinaron que los genes de resistencia a la podredumbre de raíces causada por *Phytophthora* no protege a la planta contra la podredumbre de hojas o de tallos.

Ese comportamiento puede significar un desafío, en diferentes sitios geográficos, para el desarrollo exitoso de cultivares resistentes y de otras tácticas de manejo de la enfermedad. En este sentido, se ha demostrado para cultivares de pimiento, que la resistencia puede ser afectada por la virulencia de los aislamientos,

por lo que es esencial para el desarrollo de los planes de mejoramiento, conocer el comportamiento de las poblaciones locales (Foster & Hausbeck, 2010).

#### V.7. **Análisis preliminar de la variabilidad genética**

La reproducción sexual es importante para la generación y el mantenimiento de la diversidad genética en las poblaciones de *P. capsici* (Goodwin, 1997). Este patógeno, como otras especies heterotálicas, requiere la presencia de dos tipos de apareamiento compatibles (A1 y A2) cercanos entre sí, para reproducirse sexualmente (Erwin & Ribeiro, 1996). Por lo tanto, la diversidad genética de una población debe ser analizada en conjunto con la frecuencia de tipos de apareamiento presentes en la población del patógeno, en diferentes contextos geográficos, que interactúan de algún modo, modificando su acervo genético.

El análisis filogenético de las secuencias de la región ITS de los aislamientos de *P. capsici* mostraron un patrón reticulado de haplotipos frecuentes y centrales en la red, con haplotipos menos frecuentes y más recientes en los extremos de la misma. Una posición central, en conjunto con una alta frecuencia, son consideradas como características de haplotipos ancestrales. Por lo tanto, este patrón sugiere que en la región geográfica de estudio ha ocurrido un proceso de diversificación (Templeton, 1998). La ocurrencia de estos haplotipos más frecuentes y centrales en diversos países del mundo, soporta esta hipótesis (Tabla 12). Sin embargo, el presente estudio no permite reconocer el momento en la historia evolutiva del patógeno en el que ha tenido lugar la recombinación. Se podría hipotetizar que un único evento fundador introdujo a los haplotipos ancestrales en Argentina con una representación desigual de los tipos de apareamiento A1 y A2. Subsecuentemente, la deriva génica, posiblemente, haya conducido a una pérdida de los genotipos A2 menos frecuentes. Sin embargo, no se puede descartar que estos genotipos estén presentes, aunque en muy baja frecuencia, posibilitando la reproducción sexual.

La presencia de eventos de recombinación, en ausencia de los tipos A2, podría ser el resultado de la ocurrencia de tipos de apareamiento opuestos en

especies alternativas, mediante inducción (Ko, 2007). Al respecto, Donahoo & Lamour (2008) mostraron que *P. capsici* y *P. tropicalis* formaron híbridos interespecíficos en el laboratorio. La formación de híbridos naturales ha sido reportada en cultivos hidropónicos en Holanda (Man In't Veld *et al.*, 1998) y en cultivos de níspero en Perú, entre *P. nicotianae* y *P. cactorum* (Hurtado-Gonzales *et al.*, 2009). Al respecto, un dato interesante es que el tipo de apareamiento A2 fue encontrado en *P. nicotianae* y en *P. cactorum* en el NE de Buenos Aires, aunque no se han registrado evidencias aún, de hibridización.

El análisis particionado por localidad revela que la diversidad haplotídica es particularmente alta en las localidades de Luján y General Rodríguez, comparadas con Exaltación de la Cruz. En esta última, la actividad hortícola fue introducida con posterioridad (Benencia *et al.*, 2009), lo que podría explicar parcialmente las diferencias encontradas.

Por otro lado, la carencia de una estructura genética evidenciada en el análisis de AMOVA y de los índices de  $F_{ST}$  en la población de aislamientos de *P. capsici*, podría ser explicada por las posibilidades que tiene el patógeno de dispersarse y persistir mediante el agua de riego y la implantación constante de hospedantes susceptibles (Hausbeck & Lamour, 2004; Gevens *et al.* 2006). A pesar de estos resultados, es interesante hacer notar los niveles de variación relativamente altos en los aislamientos provenientes de berenjena.

En contraste con estos hallazgos, los estudios de diversidad genética realizados por Gobena *et al.* (2012) en la región centro – oeste de Argentina, a partir de una población de aislamientos de *P. capsici* provenientes de cultivos de pimiento, todos del tipo A1, coincidieron en que la forma de reproducción es clonal.

Del mismo modo, Hurtado-González *et al.* (2008), realizaron un estudio poblacional de *P. capsici* en cultivos de tomate y de pimiento, en la región litoral del Perú y encontraron que las poblaciones fueron homogéneas. Esta región, también se caracteriza por su aridez, con precipitaciones anuales que no superan los 50 mm, mientras que en la región de la amazonia fueron recuperados cerca de 200 aislamientos de *P. capsici* de frutos infectados en 11 sitios diferentes y los análisis confirmaron la presencia de los tipos A1 y A2.

En Sudáfrica, Meitz *et al.* (2010), a partir de aislamientos provenientes de cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas, determinaron una frecuencia de tipos de

apareamiento próxima a 1:1 y una alta diversidad genética en la mayoría de los aislamientos. El clima que caracteriza a esta región es templado húmedo.

Las características de las poblaciones del norte de Estados Unidos son probablemente el resultado de una fuerte presión de selección de las oosporas con una pared gruesa que sirven como inóculo de supervivencia. En esta área la selección de oosporas es probablemente impulsada por inviernos rigurosos y la ausencia de tejido hospedante disponible para ser infectado (Lamour & Kamoun, 2009). En las áreas más al sur de Estados Unidos donde las plantas crecen todo el año, el escenario es diferente.

Por otro lado, es importante destacar lo hallado por Cohen *et al.* (1997), al realizar inoculaciones en hojas de tomate y de papa, a partir de aislamientos de *P. infestans* provenientes de Israel, Suiza y Japón, en diversas proporciones de A1 y A2. Estos autores, arribaron a la conclusión de que tanto en una proporción de 1:19 como de 19:1 de A1 y A2, respectivamente, la producción de oosporas fue abundante. Por lo tanto, concluyeron que si bien la coexistencia en el campo de los aislamientos de ambos tipos de apareamiento permite la formación de oosporas viables, la proporción presente de estos tipos no afecta necesariamente el número de oosporas producidas.

#### **V.8. Detección de otras patologías de las partes aéreas de cultivos de Solanáceas y Cucurbitáceas**

En el campo, los síntomas producidos por *Phytophthora* spp. fueron diferenciados visualmente de los causados por otros microorganismos especialmente en los frutos.

Los géneros de microorganismos detectados en berenjena: *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp. *Phomopsis* spp. y *Verticillium* sp. fueron citados previamente en el país en ese cultivo, habiendo sido identificadas las especies en todos los casos (Nome *et al.*, 2014). **Mientras que, *Phoma* spp. y *Alternaria* spp. constituyen las primeras citas a nivel nacional para este hospedante.**

**Del mismo modo, la presencia de *Phoma* sp. en frutos de zucchini, también constituye la primera cita.** Los patógenos detectados en zapallito (*Fusarium* spp.), en tomate (*Fusarium* spp.) y *Colletotrichum* sp. en pimiento, fueron citados previamente, habiendo sido identificados también al nivel de especie (Nome *et al.*, 2014).



# **CONCLUSIONES**

## VI. CONCLUSIONES

- ✓ Las condiciones de humedad y temperatura durante la estación de cultivo de las especies Solanáceas y Cucurbitáceas en la zona NE de la provincia de Buenos Aires, el manejo inapropiados de los cultivos y la producción simultánea de dos o más hospedantes de *P. capsici* en una misma quinta, favorecen el desarrollo de la enfermedad causada por *P. capsici*.
- ✓ El medio de cultivo AMT generado en el laboratorio resultó ser equivalente al APD, de acuerdo al análisis de la varianza del crecimiento de las colonias. Si bien en comparación con el AV8 fue inferior, es un recurso útil teniendo en cuenta las limitaciones para adquirir el jugo V8 ®.
- ✓ Los aislamientos de *P. capsici* identificados en la zona NE de Bs As tienen un alto potencial como patógenos al reproducir los mismos síntomas en el hospedante independientemente del origen del aislamiento; sin embargo son sensibles al metalaxyl.
- ✓ Existen indicios de diversidad genética entre los aislamientos de *P. capsici* a pesar de haber hallado un único tipo de apareamiento, A1, en la zona estudiada, dada la diversidad de haplotipos y la presencia de eventos de recombinación.
- ✓ La producción simultánea en la misma estación de cultivo, en una pequeña extensión de superficie, de diversas familias de especies hospedantes susceptibles a la enfermedad causada por *P. capsici*, bajo condiciones climáticas favorables, permite que el inóculo secundario del patógeno se incremente exponencialmente.
- ✓ La presencia recurrente de malezas en los cultivos y la ausencia de oosporas en los restos de tejido vegetal, sumado al corto período libre de cultivo, parecería indicar que el patógeno sobrevive de modo asexual.

## CONSIDERACIONES FUTURAS

- ✓ Las condiciones de temperatura y humedad locales condicionan el desarrollo de la enfermedad producida por *Phytophthora* spp. por lo tanto sería interesante analizar a futuro una región geográfica que incluya ambientes con diferentes condiciones agroclimáticas y al mismo tiempo relevar la presencia de *Phytophthora* spp. para establecer asociaciones.
- ✓ Las determinaciones futuras de la incidencia y de los mecanismos de supervivencia del patógeno permitirán establecer las causas que determinan la prevalencia de *Phytophthora* spp. en los hospedantes analizados.
- ✓ Para confirmar la ocurrencia de la reproducción sexual será necesario analizar una población de aislamientos de un área geográfica del NE de Buenos Aires, que involucre ambientes con diferencias agroclimáticas, y diferentes regiones conservadas del ADN.
- ✓ La variabilidad en la virulencia de los aislamientos, junto con la ocurrencia de eventos de recombinación que presenta la población analizada, presenta un desafío para el desarrollo de programas de mejoramiento genético de los cultivos, por lo que estos aislamientos deberían ser incluidos a futuro.

# **BIBLIOGRAFÍA CITADA**

## VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

Agrios, G.N. 1997. Plant Pathology. 4° Ed. London: Academic Press, 635 pp.

Alcoba, N.J.; Bejarano, N. & Catacata, J. 2005. Enfermedades de los cultivos de Jujuy y Salta. Diagnosticadas en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNJu. 1ª Edición. Eds. Editorial de la Universidad Nacional de Jujuy. Ediunju. San Salvador de Jujuy.

Alegbejo, M; Lawal, A; Chindo, P. & Banwo, O. 2006. Outbreak of basal stem rot and wilt disease of pepper in Northern Nigeria. *Journal of Plant Protection Research* 46 (1):7-13.

Alexopoulus, C.J.; Mins, C. W. & Blackwell, M. 1996. Introductory mycology. John Wiley & Sons, Inc. USA.869 pp.

Altschul, S.F.; Gish, W.; Miller, W.; Myers, E.W. & Lipman, D.J. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology* 215:403-410.

Andersson, B. 2007. Sexual reproduction in *Phytophthora infestans*. Doctoral diss. Dept. of Forest Mycology and Pathology, SLU. Acta Universitatis agricultura e Sueciae Vol. 77.

Aragaki, M. & Uchida, J.Y. 2001. Morphological distinctions between *Phytophthora capsici* and *P. tropicalis* spp. nov. *Mycologia* 93: 137-145.

Babadoost, M. 2005. *Phytophthora* blight of cucurbits. *The Plant Health Instructor*. doi:10.1094/PHI-I-2005-0429-01.

Babadoost, M. & Zitter, T.A. 2009. Fruit Rots of Pumpkin. A serious threat to the pumpkin industry. *Plant Disease* 93 (8):772-782. doi:10.1094/PDIS-93-8-0772.

Barnett, H.L. & Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul, Minnesota, USA. The American Phytopathological Society. 218 pp.

Barreto, D.E.; Anderson, T.; Gally, M.E. & Grijalba, P.E. 1998a. Evaluation of *Phytophthora sojae* from Argentina soybean fields. 7th International Congress of Plant Pathology, Edimburgo. Escocia. Proceedings 6: 72.

Barreto, D.E. & Distéfano de Vallone, S. 1997. Enfermedades (podredumbre de la raíz y base del tallo). Agro de Córdoba. Pp.: 218-219. En: Giorda, L.M. & Baigorri, H.E.J. El Cultivo de la soja en Argentina. Eds. INTA C.R. Córdoba. 448 pp.

Barreto, D.E.; Gally, M.E. & Grijalba, P.E. 1998b. Razas de *Phytophthora sojae* en la Región Pampeana (Argentina) en un intervalo de 8 años. *Fitopatología* 33: 17-18.

Barreto, D.E.; Stegman de Gurfinkel, B. & Fortugno, C. 1995. Races of *Phytophthora sojae* in Argentina and reaction of soybean cultivars. *Plant Disease* 79: 599-600.

Bartz, J.A. En pág. 41: Pernezny, K.; Roberts, P.D.; Murphy, J.F. & Goldberg, N.P. 2003. Compendium of Pepper Diseases. The American Phytopathological Society. APS Press. 63 pp.

Benencia, R.; Quaranta, G. & Souza Casadinho, J. 2009. Cinturón hortícola de la Ciudad de Buenos Aires. Cambios sociales y productivos. Ed. Ciccus. C.A.B.A. 331 pp.

Blackwell, E. 1943. The life history of *Phytophthora cactorum* (Leb & Cohn) Schroet. Trans. *British Mycological Society* 26:71-103.

Blair, J.E.; Coffey, M.D.; Park, S-Y., Geiser, D.M. & Kang, S. 2008. A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics and Biology* 45: 266-277.

Bowers, J.H.; Sonoda, R. M. & Mitchell, D.J. 1990. Path coefficient Analysis of the effect of Rainfall Variables on the Epidemiology of *Phytophthora* Blight of Pepper

Caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 80 (12):1439-1446. doi: 10.1094/Phyto-80-1439.

Bowers, J.H. & Mitchell, D.J. 1990. Effect of Soil-Water Matric Potencial and Periodic Flooding on Mortality of Pepper Caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 80 (12):1447-1450. doi: 10.1094/Phyto-80-1447.

Brasier, C.M. & Hansen, E.M.1992. Evolutionary biology of *Phytophthora*. *Annual review of Phytopathology* 30:173-200.

Brasier, C. 2007. *Phytophthora* Biodiversity: How Many *Phytophthora* Species Are There?. Proceedings of the Fourth Meeting of IUFRO Working Party S07.02.09.

Brasier, C. M.; Vettraino, A. M.; Chang, T. T. & Vannini, A. 2010. *Phytophthora lateralis* discovered in a Taiwan old growth *Chamaecyparis* forest. *Plant Pathology* 59:595–603.

Burkhardt, A. & Day, B. 2013. A genomics perspective on cucurbit-oomycete interactions. *Plant Biotechnology* 30:265–271.

Cabrera, M.G.; Gutiérrez S.A.; Cundóm, S.A. 2009. Tizón por *Phytophthora sojae* en cultivos de soja de la provincia del Chaco. *Summa Phytopathologica* 35 (1):75.

Café Filho, A.C. & Duniway, J.M. 1995. Dispersal of *Phytophthora capsici* and *P. parasitica* in furrow-irrigated rows of bell pepper, tomato and squash. *Plant Pathology* 44 1025-1032.

Café Filho, A.C. & Ristaino, J.B. 2008. Fitness of isolates of *Phytophthora capsici* resistant to mefenoxam from squash and pepper fields in North Carolina. *Plant Disease* 92:1439-1443.

Campbell, C.L. & Madden, L.V. 1990. Introduction to plant disease epidemiology. Wiley. Nueva York, USA. 532 pp.



Canteros, B.I. 2009. *Guía para la Identificación y el Manejo de las enfermedades Fúngicas y Bacterianas en Citrus*. CFI-INTA. Prov. de Corrientes. Eds. SENASA. Corp. Mercado Central. 94 pp.

Carballo, C.T. & Goldberg, S. 2014. Comunidad e información ambiental del riesgo. Las inundaciones y el río Luján. Ed. Dunken. 165 pp.

Cavalier-Smith, T. 1986. The kingdom Chromista: origin and systematics. *Progress in Phycological Research* 4:309-347.

Cline, E.T.; Farr, D.F. & Rossman, A.Y. 2008. A synopsis of *Phytophthora* with accurate scientific names, host range, and geographic distribution. *Plant Health Progress*. Online publication. doi:10.1094/PHP-2008-0318-01-RS.

Cohen, Y.; Farkash, S.; Reshit, Z. & Baider, A. 1997. Oospore Production of *Phytophthora infestans* and Tomato Leaves. *Phytopathology* 87 (2):191-196.

Cooke, D.H.L.; Drenth, A.; Duncan, J.M.; Wagels, G. & Brasier, C.M. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 30:17-32.

Crossan, D.F.; Haasis, H.A. & Hellis, D.E. 1954. *Phytophthora* blight of summer squash. *Plant Disease Report* 38:557-559.

Dal Bó, E.; Nelson, C.; Lopez Lambertini, P.; Samaniego, C.; Colombo, M. 2014. Enfermedades de *Solanum lycopersicum* L. (tomate). En: ATLAS FITOPATOLOGICO ARGENTINO. Vol 4, N°4. Diciembre 2013. Editores, Nome, S.F.; Docampo, D.M.; Conci, L.R. ISSN 1851-8974. Córdoba, Argentina.

Davidson, C.R.; Carroll, R.B.; Evans, T.A. & Mulrooney, R.P. 2002. First report of *Phytophthora capsici* infecting lima bean (*Phaseolus lunatus*) in the Mid-Atlantic region. *Plant Disease* 86:1049.

Deahl, K.L.; DeMuth, S. P.; Sinden, S. L. & Rivera-Pena, A. 1995. Identification of mating types and metalaxyl resistance in North American populations of *Phytophthora infestans*. *American Potato Journal*. 72:35-49.

Dick, M.W.; Wong, P.T.W. & Clark, G. 1984. The identity of the oomycete causing kikuyu yellows with a reclassification of the downy mildews. *Botanical Journal of the Linnean Society* 89: 171-198.

Dick, M.W. 1990. Phylum Oomycota. Pp. 661-685. En: Margulis, L.; Corliss, J.O.; Melkonian, M. & Chapman, D.J. Handbook of Proctista. Eds. Jones & Barlett. Publishers. Boston USA.

Dick, M.W. 1992. Patterns of phenology in populations of zoosporic fungi. Capítulo 20. Pp: 355-382. En: Carrol, G. & Wicklow, C. The Fungal Community. Its Organization and Role in the Ecosystem. Eds. Marcell Dekker, New York. 976 pp.

Dick, M.W. 2001. Straminipilous Fungi. Systematics of the Peronomycetes including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids and similar organisms. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. 670 pp.

Donahoo, R.S. & Lamour, K. 2008. Intraspecific hybridization and apomixes between *Phytophthora capsici* and *Phytophthora tropicalis*. *Mycologia* 100:911-920.

Drenth, A.; Wagels, G; Smith, B.; Sensall, B.; O'Dwyer, C; Irvine, G & Irwin, J.A.G. 2006. Development of a ADN-based method for detection and identification of *Phytophthora* species. *Australasian Plant Pathology* 35: 147-159.

Duncan, J. & Cooke, D. 2002. Identifying, diagnosing and detecting *Phytophthora* by molecular methods. *Mycologist* 16: 59-66.

Duniway, 1983. Rol of physical factors in the development of *Phytophthora* diseases. Pp.: 175-187. Ed. En: Erwin, D.C.; Bartnicki-Garcia, S. & Tsao, P.H. *Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology and pathology*. APS PRESS USA.

Erwin, D.C.; Bartnicki-Garcia, S. & Tsao, P.H. 1983. *Phytophthora*: its biology, taxonomy, ecology and pathology. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 392 pp.

Erwin, D.C. & Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 562 pp.

Excoffier, L. & Lischer, H.E.L. 2010. Arlequin suite version 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10: 564-567.

FAO. Organización para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en [www.fao.org/argentina/es/](http://www.fao.org/argentina/es/)

Fernandez Valiela, M.V. 1978. Introducción a la Fitopatología. Volumen III: Hongos. Colección Científica del INTA. Bs. As. República. Argentina. 779 pp.

Ferratto, J.A.; Mondino, M.C.; Grasso, R.; Ortiz Mackinson, M.; Longo, A.; Carrancio, L.; Firpo, I.T.; Rotondo, R.; Zembo, J.C.; Castro, G.; García, M.; Rodríguez Fazzzone, M.; Iribarren, M.J. 2010. Buenas Prácticas Agrícolas para la Agricultura Familiar. Cadena de las principales hortalizas de hojas en Argentina". Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. C.A.B.A. 535 pp.

Forster, H. & Coffey, M. D. 1992. Molecular characterization of *Phytophthora* isolates with non-papillate sporangia causing root rot of raspberry using mtDNA restriction fragment length polymorphisms. *Mycological Research* 96: 571-577.

Foster, J.M.; Naegele, R.P. & Hausbeck, M.K. 2013. Evaluation of eggplant rootstock and pepper varieties for potencial resistance to isolates of *Phytophthora capsici* from Michigan and New York. *Plant Disease* 97:1037-1041.

Foster, J.M. & Hausbeck, M.K. 2010. Resistance of pepper to *Phytophthora* crown, root and fruit rot is affected by isolate virulence. *Plant Disease* 94:24-30.

- French-Monar, R.D.; Jones, J.B. & Roberts, P.D. 2006. Characterization of *Phytophthora capsici* associated with roots of weeds on Florida vegetable farms. *Plant Disease* 90 (3):345-350.
- Frezzi, M.J. 1950. Las especies de *Phytophthora* en la Argentina. *Revista de Investigación Agropecuaria* 4:47-133.
- Fry, W.E. 1982. Principles of Plant Disease Management. Academic Press. Orlando, Florida. 378 pp.
- Fry, W.E. & Grünwald, N. J. 2010. Introducción a los Oomicetes. Trans. Alberto J. Valencia-Botín. 2012. *The Plant Health Instructor*. doi:10.1094/PHI-I-2012-0220-01.
- Gallegly, M. & Hong, C. 2008. *Phytophthora*. Identifying Species by Morphology and ADN Fingerprints. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 158 pp.
- Gevens, A.J. & Hausbeck, M.K. 2005. *Phytophthora capsici* isolated from snap beans is pathogenic to cucumber fruit and soybean (Resumen). *Phytopathology* 95:S162.
- Gevens, A.J.; Donahoo, R.S.; Lamour, K.H. & Hausbeck, M.K. 2006. Characterization of *Phytophthora capsici* from Michigan surface irrigation water. *Phytopathology* 97: 421-428.
- Gevens, A.J., Roberts, P.D., McGovern, R.J. & Kucharek, T.A. 2008. Vegetable Diseases Caused by *Phytophthora capsici* in Florida. Plant Pathology Department document SP159. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Glosier, B.R.; Ogundiwin, E.A.; Sidhu, G.S.; Sischo, D.R. & Prince, J.P. 2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica* 162:23-30.

Gluber, W.D. & Davis, R.M. 2004. P.:20. En: Zitter, T. A.; Hopkins, D. E. & Thomas, C. E. 2004. Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. The American Phytopathological Society. Ed. Mundi-Prensa. 88 pp.

Gobena, D.; Roig, J.; Hulvey, J. & Lamour, K. 2012. Genetic diversity of *Phytophthora capsici* isolates from pepper and pumpkin in Argentina. *Mycologia* 104 (1):102-107.

González, B.A. 2007. Persistencia de *Phytophthora cactorum* en condiciones naturales en la zona norte de la provincia de Buenos Aires. Tesis doctoral. 262 pp.

González, V.; Ramallo, C.J.; Vázquez de Ramallo, N.E.; Plopper, L.D. & Torres Leal, G.J. 1998. Podredumbre del fruto de la higuera causado por *Phytophthora palmivora* en Tucumán, Argentina. *Fitopatología*. 33:228-231.

González-Chavira, M.M.; Torres-Pacheco, I. & Guzmán Maldonado, H. 2002. Patógenos involucrados en la marchitez del chile. Proceedings of the 16th International Pepper Conference, Tampico, Tamaulipas, México. Noviembre 10-12.

Goodwin, S.V. 1997. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* 87 (4):462-473.

Granke, L.L. & Hausbeck, M.K. 2010. Effects of Temperature, Humidity and Wounding on Development of *Phytophthora* Rot of Cucumber Fruit. *Plant Disease* 94:1417-1424.

Granke, L.L.; Lamour, K; Hausbeck, M.K. 2012. Advances in Research on *Phytophthora capsici* on Vegetables Crops in the United States. *Plant Disease* 95:1588-1600.

Granke, L.L.; Quesada-Ocampo, L.M. & Hausbeck, M.K. 2011. Variation in Phenotypic Characteristics of *Phytophthora capsici* Isolates from a Worldwide Collection. *Plant Disease* 95 (9): 1080-1088.

Granke, L.L.; Windstam, S.T.; Hoch, H.C.; Smart, C.D. & Hausbeck, M. K. 2009. Dispersal and Movement Mechanisms of *Phytophthora capsici* Sporangia. *Phytopathology* 99 (11):1258-1264.

Greslebin, A.G.; Hansen, E.M.; Winton, L.M. & Rajchenberg, M. 2005. *Phytophthora* species from declining *Austrocedrus chilensis* forests in Patagonia, Argentina. *Mycologia* 97:218-228.

Greslebin, A.G.; Hansen, E.M. & Sutton, W, 2007. *Phytophthora austrocedrae* sp. nov, a new species associated with *Austrocedrus chilensis* mortality in Patagonia (Argentina). *Mycological Research* 111:308–316.

Grijalba, P.E.; Ridao, A.C. & Steciow, M.M. 2014. Prevalencia y caracterización de razas de *Phytophthora sojae* en el sudeste de Buenos Aires. 3er Congreso Argentino de Fitopatología. Tucumán. Libro de Res.: 370.

Grünwald, N.J. & Flier, W.G. 2005. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin, *Annual Review of Phytopathology* 43:171-190.

Grünwald, N.J.; Martin, F.N.; Larsen, M.M.; Sullivan, C.M.; Press, C.M.; Coffey, M.D.; Hansen, E.M. & Parke, J.L. 2011. Phytophthora-ID.org: a sequence-based *Phytophthora* identification tool. *Plant Disease* 95:337-342.

Hansen, E.M. 2000. *Phytophthora* in the Americas. En: Hansen, E.M. & Sutton, W. Eds. Proceedings of the first meeting of the International Union of Forest Research Organizations (IUFRO) working party S07-02-09, *Phytophthoras* in Forest and Wildland Ecosystems'. Oregon State University Print, Corvallis, Oregon. Pp.: 23–27.

Hardham, A.R. 2005. Pathogen Profile: *Phytophthora Cinnamomi*. *Molecular Plant Pathology* 6:589–604. doi: 10.1111/J.1364-3703.2005.00308.X.

Hausbeck, M.K. 2012. Managing *Phytophthora* on Eggplant. Michigan State University Extension. Disponible en:  
[http://www.veggies.msu.edu/Research/FS\\_EggplantPcap.pdf](http://www.veggies.msu.edu/Research/FS_EggplantPcap.pdf)

Hausbeck, M.K. & Lamour, K.H. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges. *Plant Disease* 88:1292–1303.

Hickman, C.J. 1970. Biology of *Phytophthora* zoospores. *Phytopathology* 60:1128-1135.

Holmes, G.J.; Rodríguez, R.J. & Redman, R.S. 2001. Relative susceptibility of cucurbit and Solanaceous crops to *Phytophthora* blight. *Phytopathology* 91:S39. 2001 Joint Meeting APS Abstracts of Presentations.

Hurtado-González, O.; Aragon-Caballero, L.; Apaza-Tapia, W.; Donahoo R & Lamour, K. 2008. Survival and Spread of *Phytophthora capsici* in Coastal Peru. *Phytopathology* 98 (6):688-694.

Hurtado-González, O.P.; Aragon-caballero, L.M.; Flores-Torres, J.G.; Man In't Veld, W. & Lamour, K.H. 2009. Molecular comparison of natural hybrids of *Phytophthora nicotianae* and *Phytophthora cactorum* infecting loqua trees in Perú and Taiwán. *Mycologia* 101(4):496-502. doi: 10.3852/08-079.

Hwang, B.K. & Kim, C. H. 1995. *Phytophthora* blight of pepper and its control in Korea. *Plant Disease* 79:221-227.

Index Fungorum, CABI Biocience Database. Disponible en: <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>. Consultado en 2014 y 2015.

INTA Carta de Suelos de la República Argentina. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/suelos/cartas/3560> (11/11).

Iribarren, M.J.; Borassi, C.; Guillin, E. & Ferri, A. 2012. Caracterización morfológica y molecular de aislamientos de *Phytophthora capsici* obtenidos de cultivos hortícolas del NE de la provincia de Buenos Aires. XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Potrero de Los Funes, 2012. Libro de Res.: 61.



Iribarren, M. J.; Vallejo, F.; Weingandt, V.; Torelli, C.; Vergara, M. V., González, B. A. 2011. "Relevamiento de enfermedades en tallos y frutos de berenjena en el NE de la Provincia de Buenos Aires". Resumen presentado y aprobado. II Congreso Argentino de Fitopatología, Mar del Plata. AAF.

Isakeit, T. 2007. Phytophthora blight caused by *Phytophthora capsici* on pumpkin and winter squash in Texas. *Plant Disease* 91:633.

Islam, M.R. & Meah, M.B. 2011. Association of *Phomopsis vexans* with Eggplant (*Solanum melongena*) Seeds, Seedlings and its Management. *The Agriculturists* 9 (1&2):8-17. doi: <http://dx.doi.org/10.3329/agric.v9i1-2.9474>

Jackson, K.L. 2010. Diversity and fungicide resistance of *Phytophthora capsici* on vegetable crops in Georgia. Tesis doctoral. 104 pp.

Jones, J.B.; Jones, J.P.; Stall, R.E. & Zitter, T.A. 1991. Compendium of Tomato Diseases. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota. 73 pp.

Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; David, J.C. & Stalpers, J.A. 2001. Dictionary of the Fungi, 9° Ed. CAB International, Wallingford. 655 pp.

Ko, W.H. 2007. Hormonal regulation of sexual reproduction in *Phytophthora*. *Botanical Studies* 48:365-375.

Koike, S.T; Gladders, P. & Paulus, A.O. 2007. Vegetable Diseases. A color Handbook. Academic Press. USA. 448 pp.

Kong, P.; Hong, C.X. & Richardson, P. A. 2003. Rapid detection of *Phytophthora cinnamomi* using PCR with primers derived from the Lpv putative storage protein genes. *Plant Pathology* 52:681-693.

Kreutzer, W.A., Bodine, E. W., and Durrell, L. W. 1940. Cucurbit diseases and rot of tomato fruit caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 30:972-976.

- Kroon, L.P.N.M., Bakker, F. T., Van Den Bosch, G.B.M., Bonants, P.J.M. & Flier, W.G. 2004. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear ADN sequences. *Fungal Genetic Biology* 41:766-782.
- Kroon, L.P.N.M.; Brouwer, H.; de Cock, A. W. A. M. & Govers, F. 2012. The genus *Phytophthora* anno 2012. *Phytopathology* 102:348-364.
- Kuan, T.L. & Erwin, E.C. 1980. Predisposition effect of water saturation of Soil on *Phytophthora* root rot of alfalfa. *Phytopathology* 70:981-986.
- Lamour, K. 2013. *Phytophthora*: A Global Perspective. Cabi Plant Protection series 2. University of Tennessee, Knoxville, USA. 244 pp.
- Lamour, K.H. & Hausbeck, M. K. 2000. Mefenoxan insensitivity and the sexual stage of *Phytophthora capsici* in Michigan cucurbit fields. *Phytopathology* 90:396-400. doi:10.1094/PHYTO.2000.90.4.396.
- Lamour, K.H. & Hausbeck, M.K. 2001. Investigating the spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan. *Phytopathology*. 91:973-980.
- Lamour, K.H. & Kamoun, S. 2009. Oomycete Genetics and Genomics Diversity, Interactions and Research Tools. Wiley-Blackwell, 582 pp.
- Lamour, K.H.; Stam, R.; Jupe, J. & Huitema, E. 2012. The oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici*. *Molecular Plant Pathology* 13 (4):329–337. doi: 10.1111/J.1364-3703.2011.00754.
- Leonian, L.H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. *Phytopathology* 12:401-408.
- Lindquist, J.C. 1932. Sobre la presencia de *Phytophthora capsici* en la República Argentina. *Physis* 11: 170-171.

Lindquist, J.C. 1938. Muerte de manzanos ocasionada por *Phytophthora cactorum*. *Revista de la Facultad de Agronomía* (La Plata). 21:195-199.

Lui, 2004. Population proportion or prevalence. En: Lui, K.J. Statistical Estimation of Epidemiological Risk. Statistics in practice. John Wiley & Sons, Ltd ISBN: 0-470-85071-X.

Lucero, G.; Vettraino, A.M.; Pizzuolo, P.; Di Stefano, C. & Vannini, A. 2007. First report of *Phytophthora palmivora* on olive trees in Argentina. *Plant Pathology* 56: 728-728.

Luz, E.D.M.N., Cerqueira, A.O., Faleiro, F.G., Dantas, A., Matsuoka, K. & Marques, J.R.B. 2003. Diversidade genética de isolados de *Phytophthora capsici* de diferentes hospedeiros com base em marcadores RAPD, patogenicidade e morfología. *Fitopatología Brasileira* 28 (5):559-564.

Madden, L.V.; Hughes, G & Frank van den Bosch. 2007. The study of plant disease epidemics. APS Press. 432 pp.

Man In't Veld, W.A.; Veenbaas-Rijks W.J.C; Llieva, E.; De Cock, A; Bonants, P. & Pieters, R. 1998. Natural hybrids of *Phytophthora nicotianae* and *Phytophthora cactorum* demonstrated by isozyme analysis and random amplified polymorphic ADN. *Phytopathology* 88:922-929.

Margulis, L.; Corliss, J.O.; Melkonian, M. & Chapman, D.J. 1989. Handbook of protocista. Jones & Barlett (Eds.), Boston. 914 pp.

Margulis, L. & Schwartz, K.V. 1988. Five kingdoms: An illustrated guide to the phyla of life on earth. Freeman WH & Co., New York (3° Edición). 448 pp.

Martin, F.N. & Tooley, P.W. 2003. Phylogenetic relationships among *Phytophthora* species inferred from sequence analysis of mitochondrially encoded cytochrome oxidase I and II genes. *Mycologia* 95:269-284.

Martin, F.N.; Abad, Z.G.; Balci, Y; Ivors, K. 2012. Identification and Detection of *Phytophthora*: Reviewing Our Progress, Identifying Our Needs. *Plant Disease* 96 (8):1080-1103.

McDonald, B.A. & Linde, C. 2002. Pathogen Population Genetics, Evolutionary Potential and Durable Resistance. Annual Review. *Phytopathology* 40:349–79.

Mchau, G.R.A. & Coffey, M.D. 1995. Evidence of the existence of two subpopulations in *Phytophthora capsici* and a redescription of the species. *Mycological Research* 99:89-102.

Meitz, J.C.; Linde, C.C.; Thompson, A.; Langenhoven, S. & McLeod, A. 2010. *Phytophthora capsici* on vegetable hosts in South Africa; distribution, host range and genetic diversity. *Australasian Plant Pathology* 39:431-439.

Melegari, A.; Ridao, A.; Ortego, J. 2014. Enfermedades de *Solanum tuberosum* L. (papa, patata). En: ATLAS FITOPATOLOGICO ARGENTINO. Vol 4, N°4. Diciembre 2013. Editores, Nome, S.F.; Docampo, D.M.; Conci, L.R. ISSN 1851-8974. Córdoba, Argentina.

Mercado Central de Buenos Aires. Disponible en:  
[www.mercadocentral.gob.ar](http://www.mercadocentral.gob.ar). Consultado en 2012.

Mitchell, D.J. & Kannwischer-Mitchell, M.E. 1992. *Phytophthora*. Pp. 31-38. En: Singleton, L. E.; Mihail, J. D. & Riush, C. M. Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. Eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Nei, M. 1978. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University. Press, New York. 512 pp.

Newhook, F.J., Waterhouse, G.M. & Stamps, D.J. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological paper 143. Commonwealth Mycological Institute, Kew, U.K. 20 pp.

Nome, S.F.; Docampo, D.M.; Conci, L.R. 2014. Atlas Fitopatológico de Argentina. Córdoba, Argentina. Volumen 4 N° 4. ISSN 1851 – 8974. Disponible en: [www.fitopatoatlas.org.ar](http://www.fitopatoatlas.org.ar).

Olmstead, R.G. & Bohs, L. 2007. A Summary of molecular systematic research in *Solanaceae*: 1982-2006. *Acta Hortícola (ISHS)* 745:255-268.

Palazón, C. & Palazón, I. 1989. Estudios epidemiológicos sobre la “tristeza” del pimiento en la zona del Valle Medio del Ebro. *Volumen de Sanidad Vegetal de Plagas* 15:233-262.

Papavizas, G.C.; Bowers, J.H. & Johnston, S.A. 1981. Selective isolation of *Phytophthora capsici* from soils. *Phytopathology* 71:129-133.

Park, J.; Park, B.; Blair, J. E.; Geiser, D.M.; Isard, S.; Mansfield, M.A.; Nikolaeva, E.; Park, S.Y.; Russo, J.; Kim, S.H.; Greene, M.; Ivors, K.L.; Balci, Y.; Peiman, M.; Coffey, M.D.; Jung, K.; Lee, Y.H.; Rossman, A.; Farr, D.; Cline, E.; Grünwald, N.J.; Luster, D.G.; Schrandt, S.; Martin, F.; Makalowska, I. & Kang, S. 2008. *Phytophthora* Database: A forensic database supporting the identification and monitoring of *Phytophthora*. *Plant Disease* 92:966-972.

Parra, G & Ristaino, J.B. 2001. Resistance to mefenoxan and metalaxil among field isolates of *Phytophthora capsici* causing *Phytophthora* blight of bell pepper. *Plant Disease* 85:1069-1075.

Pavon, C. & Babadoost, M. 2006. Determining density of *Phytophthora capsici* oospores in soil. Department of Crop Sciences, University of Illinois, 1102 S.

Pernezny, K.L.; Roberts, P.D.; Murphy, J.F. & Goldberg, N.P. 2003. Compendium of Pepper Diseases. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota. 63 pp.

*Phytophthora* Database. Disponible en: <http://www.phytophthoradb.org>. Consultado en 2014 y 2015.

Ploetz, R.C. & Haynes, J.L. 2000. How does *Phytophthora capsici* survive in squash fields in southeastern Florida during the off-season?. *Proceedings of the Florida State and horticultural Society* 113:211-215.

Ploetz, R.C.; Heine, G.; Haynes, J. & Watson, M. 2002. An investigation of biological attributes that may contribute to the importance of *Phytophthora capsici* as a vegetable pathogen in Florida. *Annual Applied Biology* 140:61-67.

Ploper, L.D.; Gonzalez, V. & Ramallo, N.V. 1999. Presencia de *Phytophthora sojae* en lotes de soja de Tucumán y Salta. *Avance-Agroindustrial* 19:16-19.

Podger, F.D. 1972. *Phytophthora cinnamomi*, a cause of lethal disease in indigenous plant communities in Western Australia. *Phytopathology* 62:972-981.

Quesada-Ocampo, L.M. & Hausbeck, M.K. 2010. Resistance in Tomato and Wild Relatives to Crown and Root Rot Caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 100 (6):619-627.

Quesada-Ocampo, L.M., Granke, L.L., Mercier, M.R., Olsen, J. & Hausbeck, M.K. 2011. Investigating the genetic structure of *Phytophthora capsici* populations. *Phytopathology* 101:1061–1073.

Ristaino, J.B. 1990. Intraspecific Variation among Isolates of *Phytophthora capsici* from Pepper and Cucurbit Fields in North Carolina. *Phytopathology* 80:1253-1259.

Ristaino, J.B. 1991. Influence of rainfall, drip irrigation and inoculum density on the development of *Phytophthora* root and crown rot epidemics and yields in bell pepper. *Phytopathology* 81:922-929.

Ristaino, J.B. & Gumpertz, 2000. New Frontiers In The study Of Dispersal And Spatial Analysis Of Epidemics Caused By Species In The Genus *Phytophthora*. *Annual Review of Phytopathology* 38:541-576.

- Ristaino, J.B. & Johnston, S.A. 1999. Ecologically based approaches to management of *Phytophthora* blight on bell pepper. *Plant Disease* 83:1080-1089.
- Ristaino, J.B., Madritch, M., Trout, C.L. & Parra, G. 1998. PCR amplification of ribosomal ADN for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Applied Environmental Microbiology* 64:948-954.
- Ristaino, J.B.; Larkin, R.P. & Campbell, C.L. 1994. Spatial Dynamics of Disease Symptom Expression During *Phytophthora* Epidemics in Bell Pepper. *Phytopathology* 84 (10):1015-1024.
- Ristaino, J.B.; Larkin, R.P. & Campbell, C.L. 1993. Spatial and Temporal Dynamics of *Phytophthora* Epidemics in Commercial Bell Pepper Fields. *Phytopathology* 83 (12):1312-1320.
- Rizzo, D.M., Garbelotto, M., Davidson, J.M., Slaughter, G.W. & Koike, S. 2002. *Phytophthora ramorum* as the cause of extensive mortality of *Quercus* spp. and *Lithocarpus densiflorus* in California. *Plant Disease* 86:205-214.
- Rizzo, D.M., Garbelotto, M. & Hansen, E.A. 2005. *Phytophthora ramorum*: Integrative research and management of an emerging pathogen in California and Oregon forests. *Annual Review of Phytopathology* 43:309-335.
- Robin, C.; Piou, D.; Feau, N.; Douzon, G.; Schenck, N. & Hansen, E.M. 2011. Root and aerial infections of *Chamaecyparis lawsoniana* by *Phytophthora lateralis*: a new threat for European countries. *Forest Pathology* 41:417–424.
- Rodríguez Moreno, V.M.; Luna Ruiz, J. de J.; Valle García, P.; Tiscareño López, M. & Ruiz Corral, J.A. 2004. Caracterización patogénica y sexual de *Phytophthora capsici* Leonian y análisis de distribución espacial en el Centro-norte de México mediante un sistema de información geográfica. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:72-81.



- Rossini, M; Dobra, A. & Di Masi, S. 1997. Las podredumbres radicales y del cuello en manzanos y perales en Alto Valle de Rio Negro y Neuquén. *Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)*. 28:73-79.
- Roy, S.G. & Grünwald, N.J. 2014. Review of Plant Pathology. *Indian Society of Mycology and Plant Pathology Scientific Publishers* 6:387-412.
- Rozas, J. & Librado, P. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451-1452.
- Sanogo, S. 2006. Predispositional effect of soil water saturation on infection of chile pepper by *Phytophthora capsici*. *Horticultural Science* 41:172-175.
- Sanogo, S. 2007. Asexual Reproduction of *Phytophthora capsici* as Affected by Extracts from Agricultural and Nonagricultural Soils. *Phytopathology* 97 (7):873-878.
- Sarasola, A.A. & de Sarasola, M.A.R. 1959. Enfermedades del eucalipto en la Argentina. *IDIA*. 139:1-11.
- Satour, M.M. & Butler, E.E. 1967. A root and crown root of tomato caused by *Phytophthora capsici* and *P. parasitica*. *Phytopathology* 58:183-192.
- Schaefer, H. & Renner, S.S. 2011. *Cucurbitaceae*. Pp. 112–174. En: Kubitzki, K. & Bayer, C. The families and genera of vascular plants, Vol. 10, Sapindales, Cucurbitales, *Myrtaceae*. Eds. Berlin Springer.
- Silvar, C.; Merino, F. & Díaz, J. 2006. Diversity of *Phytophthora capsici* in Northwest Spain: Analysis of Virulence, Metalaxil Response, and Molecular Characterization. *Plant Disease* 90:1135-1142.
- Sogin, M.L. & Silberman, J.D. 1998. Evolution of the protist and the protistan parasites from the perspective of the molecular systematic. *International Journal of Parasitology* 28:11-20.

Soil Survey Staff. 1999. Soil Taxonomy: A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. 2da. Edición. Natural Resources Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook 436.

Stamps, D.J.; Waterhouse, G.M.; Newhook, F.J. & Hall, G.S. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. Mycological Paper N° 162.C.A.B. 28 pp.

Sun, W.X.; Jia, Y.J.; O'Neill, L.R.; Feng, B.Z. & Shang, X.G. 2008. Genetic diversity in *Phytophthora capsici* from Eastern China. *Plant Pathology* 30:414-424.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. Ed. Sinauer. 5ta. Edición. 782 pp.

Tajima, F. 1983. Evolutionary relationships on DNA sequences in finite populations. *Genetics* 105:437-460.

Tamietti & Valentino. 2001. Physiological characterization of a population of *Phytophthora capsici* Leonian from Northern Italy. *Journal of Plant pathology* 83 (3):199-205.

Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology Evolution* 28 (10):2731–2739.

Tamura, K. & Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.

Templeton, A.R. 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypothesis about gene flow and population history. *Molecular Ecology* 7:381-397.

Tian, D. & Babadoost, M. 2005. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. *Plant Disease* 88:485-489.

Tompkin, C.M., & Tucker, C. M. 1937. *Phytophthora* root rot of honeydew melon. *Journal of Agricultural Resources* 54:933-944.

Tooley, P.W. & Kyde K.L. 2007. Susceptibility of some Eastern forest species to *Phytophthora ramorum*. *Plant Disease* 91:435-438.

Tsao, P.H. 1991. The identities, nomenclature and taxonomy of *Phytophthora* isolates from black pepper. Pp.: 185-211. En: Goa, I.; Sarma, Y.R. & Premkumar, T. Diseases of Black Pepper. Proc. Int. Pepper Comm. Workshop on Black Pepper Diseases. Eds.

Tucker, C.M. 1931. Taxonomy of the Genus *Phytophthora* de Bary. University of Missouri, Columbia. *Agricultural Experiment Station Bulletin* 153:1-208.

Tyler, B.M. 2007. *Phytophthora sojae*: Roots rot pathogen of soybean and model oomycete. *Molecular Plant Pathology* 8:1-8.

Uchida, J.Y. 1984. Oosporogenesis and Clamidospore formation in *Phytophthora capsici*. University of Hawaii. 88 pp.

Wainwright, P.O.; Hinkle, G.; Sogin, M.L. & Stickel, S.K. 1993. Monophyletic origins of the metazoa: an evolutionary link with fungi. *Science* 260:340-342.

Wang, Z.; Langston, D.B.; Csinos, A.S.; Gitaitis, R.D.; Walcott, R.R. & Ji, P. 2009. Development of an improved isolation approach and simple sequence repeat marker to characterize *Phytophthora capsici* populations in irrigation ponds in southern Georgia. *Applied and Environmental Microbiology* 75:5467–5473.

Waterhouse, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological paper 92. Commonwealth Mycological institute, Kew. U. K. 22 pp.

Watterson, G.A. 1975. On the number of segregating sites in genetical models without recombination. *Theoretical Population Biology* 7:256-276.

Werres, S; Marwitz, R.; Man In 't Veld, W.A.; De Cock, A.W.A.M., Bonants, P.J.M.; De Weerd, M; Themann, K., Ilieva, E. & Baayen, R.P. 2001. *Phytophthora ramorum* sp. nov., a new pathogen on *Rhododendron* and *Viburnum*. *Mycological Research* 105:1155-1165. doi:10.1017/S0953756201004865.

White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S. & Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322. En: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J. and White T. J. Academic Press, Inc., New York.

Wolcan, S. & Grego, P. 2004. Complejos fúngicos asociados a enfermedades de *Melissa officinalis* y de *Lavandula* spp. II Congreso Argentino de Floricultura y Plantas 421 Ornamentales. VI Jornadas Nacionales de Floricultura. I Encuentro.

Yin, J.; Jackson, K.L.; Candole, B.L.; Csinos, A.S.; Langston, D.B. & Ji, P. 2012. Aggressiveness and diversity of *Phytophthora capsici* isolates in Georgia. *Annals of Applied Biology* 160:191-200.

Zapata, R. 2013. Enfermedades de *Solanum melongena* L. (berenjena). En: ATLAS FITOPATOLOGICO ARGENTINO. Vol. 4, N°4. Diciembre 2013. Editores, Nome, S.F.; Docampo, D.M.; Conci, L.R. ISSN 1851-8974. Córdoba, Argentina.

Zitter, T.A.; Hopkins, D.L. & Thomas, C.E. 2004. Compendium of Cucurbit Diseases. APS PRESS. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota. 88 pp.

## **VIII. ANEXOS**

**Anexo 1.1.** Ubicación geográfica de las unidades de producción. Se identifican con números las 37 unidades de producción y con rojo en las que no hubo presencia de *P. capsici*.

Localidad	N°	Productor	Georeferencias	
Luján	10	Choque 1	34°32'12''S	59°8'55''O
Luján	11	Choque 2	34°43'49''S	59°81'35''O
Luján	12	Choque 3	34°43'78''S	59°81'25''O
Luján	20	Oliveira	34°34'26"S	59°08'11"O
Luján	19	Menacho	34°33'14"S	59°08'28"O
Gral. Rodríguez	34	Villafuerte A.	34°40'61''S	58°26'02''O
Gral. Rodríguez	21	Ordoñez R.	34°36'45"S	59°00'05"O
Gral. Rodríguez	5	Anagua	34°39'61''S	58°71'02'O
Gral. Rodríguez	30	Velazquez E.	34°36'20"S	58°59'51"O
Gral. Rodríguez	23	Ramirez T.	34°40'19"S	58°58'09"O
Ex. de la Cruz	1	Achura 1	34°22'1"S	59°08'15"O
Ex. de la Cruz	17	Mamani J.	34°21'52"S	59°08'09"O
Ex. de la Cruz	16	Jo 1	34°17'1"S	59°06'06"O
Ex. de la Cruz	2	Achura 2	34°22'3"S	59°08'20"O
Ex. de la Cruz	35	Villafuerte D.	34°19'36"S	59° 07'26"O
Ex. de la Cruz	36	Villafuerte J.	34°19'45"S	59°07'08"O
Ex. de la Cruz	22	Porco	34°19'41"S	59°07'22"O
Luján	9	Callaguara	34°34'34"S	59°08'07"O
Gral. Rodríguez	25	Uño 1	34°36'37"S	58°55'23"O
Gral. Rodríguez	4	Aguilar	34°40'33"S	58°57'36"O
Gral. Rodríguez	28	Velazquez O. 1	34°36'15"S	58°59'43"O
Gral. Rodríguez	26	Uño 2	34°36'37"S	58°55'25"O
Gral. Rodríguez	31	Velazquez F.	34°35'24"S	58°56'32"O
Gral. Rodríguez	32	Velazquez O. 2	34°36'20"S	58°59'44"O
Ex. de la Cruz	6	Apasa 1	34°22'3"S	59°07'48"O
Ex. de la Cruz	18	Mamani M.	34°21'49"S	59°08'4"O
Ex. de la Cruz	7	Apasa 2	34°22'11"S	59°07'57"O
Gral. Rodríguez	29	Velazquez A.	34°36'41"S	59°00'04"O
Luján	13	De Jesus	34°35'30"S	59°02'24"O
Gral. Rodríguez	27	Uño Zucchini	34°36'41"S	58°55'20"O
Ex. de la Cruz	14	Guerrero A.	34°19'54''S	59°04'09''O
Gral. Rodríguez	24	Tacistro	34°35'37"S	59°01'21"O
Gral. Rodríguez	3	Aguilar H.	34°40'31"S	58°57'29"O
Luján	15	Jo 2	34°25'36"S	59°07'51"O
Gral. Rodríguez	33	Velazquez Ro	34°36'18"S	58°59'49"O
Ex. de la Cruz	37	Villafuerte S.	34°19'47"S	59°07'06"O
Gral. Rodríguez	8	Beatr Chile	34°36'16"S	58°59'41"O

**Anexo 1.2** Superficie de los lotes muestreados con presencia de *Phytophthora* spp.

Año	Localidad	Hospedante	N°	Productor	Fecha	Superficie / Lote
2010	Luján	Zapallito	10	Choque 1	15-mar	1000
	Luján	Zapallito	11	Choque 2	16-mar	850
	Luján	Zapallito	12	Choque 3	16-mar	100
	Luján	Zapallito	20	Oliveira	16-mar	1100
	Luján	Zapallito	20	Oliveira	16-mar	500
	Luján	Zapallito	19	Menacho	17-mar	370
	Gral. Rodríguez	Zapallito	34	Villafuerte A.	15-ene	860
	Gral. Rodríguez	Zapallito	5	Anagua	11-feb	1200
	Gral. Rodríguez	Zapallito	30	Velazquez E.	12-feb	1230
	Ex. de la Cruz	Zapallito	1	Achura 1	18-feb	1300
	Ex. de la Cruz	Zapallito	17	Mamani J.	18-feb	2200
	Ex. de la Cruz	Zapallito	16	Jo 1	03-mar	500
	Ex. de la Cruz	Zapallito	2	Achura 2	26-mar	1820
	Ex. de la Cruz	Zapallito	35	Villafuerte D.	07-abr	1680
	Ex. de la Cruz	Zapallito	35	Villafuerte D.	07-abr	500
	Ex. de la Cruz	Zapallito	22	Porco	06-mar	500
	Luján	Berenjena	10	Choque 1	15-ene	600
	Luján	Berenjena	11	Choque 2	16-mar	520
	Luján	Berenjena	9	Callaguara	17-mar	1000
	Gral. Rodríguez	Berenjena	25	Uño 1	21-ene	500
	Gral. Rodríguez	Berenjena	5	Anagua	11-feb	950
	Gral. Rodríguez	Berenjena	30	Velazquez E.	12-feb	850
	Gral. Rodríguez	Berenjena	26	Uño 2	08-mar	1200
	Gral. Rodríguez	Berenjena	31	Velazquez F.	03-mar	400
	Ex. de la Cruz	Berenjena	1	Achura 1	18-feb	630
	Ex. de la Cruz	Berenjena	6	Apasa 1	18-feb	550
	Ex. de la Cruz	Berenjena	18	Mamani M.	18-feb	500
	Ex. de la Cruz	Berenjena	7	Apasa 2	26-mar	1150
	Ex. de la Cruz	Berenjena	35	Villafuerte D.	07-abr	1300
	Gral. Rodríguez	Tomate	25	Uño 1	18-feb	560
	Gral. Rodríguez	Tomate	31	Velazquez F.	03-mar	350
	Ex. de la Cruz	Tomate	16	Jo 1	03-mar	100
	Ex. de la Cruz	Tomate	6	Apasa 1	26-mar	1800
	Ex. de la Cruz	Pimiento	35	Villafuerte D.	07-abr	2100
2011	Luján	Pimiento	20	Oliveira	12-mar	1000
	Gral. Rodríguez	Zapallito	29	Velazquez A.	05-may	850
	Gral. Rodríguez	Zapallito	25	Uño 1	15-feb	500
	Gral. Rodríguez	Zapallito	25	Uño 2	15-feb	700
	Gral. Rodríguez	Zapallito	5	Anagua	18-abr	520
	Gral. Rodríguez	Zapallito	5	Anagua	18-abr	750



Gral. Rodríguez	Zapallito	27	Uño Zucchini	15-abr	1100
Gral. Rodríguez	Zapallito	24	Tacistro	16-abr	1500
Ex. de la Cruz	Zapallito	6	Apasa 1	23-mar	1400
Ex. de la Cruz	Zapallito	7	Apasa 2	23-mar	1300
Ex. de la Cruz	Zapallito	1	Achura 1	28-feb	650
Luján	Berenjena	24	Tacistro	30-abr	1230
Gral. Rodríguez	Berenjena	3	Aguilar H.	14-abr	1600
Gral. Rodríguez	Berenjena	30	Velazquez E.	15-abr	700
Ex. de la Cruz	Berenjena	7	Apasa 2	17-abr	1250
Gral. Rodríguez	Tomate	33	Velazquez Ro	15-feb	1000
Ex. de la Cruz	Tomate	2	Achura 2	14-abr	750
Ex. de la Cruz	Tomate	37	Villafuerte S.	14-abr	1500
Gral. Rodríguez	Pimiento	33	Velazquez Ro	15-feb	560
Gral. Rodríguez	Pimiento	8	Beatr Chile	07-ene	250
Ex. de la Cruz	Pimiento	6	Apasa 1	17-mar	2050

**Anexo 2.** Características de los lotes muestreados.  
Variedad, antecesor y sistema de riego.

<b>Año</b>	<b>Localidad</b>	<b>Hospedante</b>	<b>Productor</b>	<b>Variedad</b>	<b>Antecesor</b>	<b>Sist. riego</b>
2010	Luján	Zapallito	Choque 1	Angelo	frutilla	goteo
2010	Luján	Zapallito	Choque 2	Angelo	frutilla	goteo
2010	Luján	Zapallito	Choque 3	Angelo	verdeo	surco
2010	Luján	Zapallito	Oliveira	Angelo	verdeo	surco
2010	Luján	Zapallito	Menacho	Angelo	lechuga	surco
2010	Luján	Zapallito	De Jesus	Angelo	acelga	surco
2010	Rodríguez	Zapallito	Villafuerte A.	Angelo	remolacha	surco
2010	Rodríguez	Zapallito	Anagua	Angelo	tomate	surco
2010	Rodríguez	Zapallito	Velazquez E.	Angelo	frutilla	goteo
2010	Rodríguez	Zapallito	Velazquez O.	Angelo	verdeo	surco
2010	Rodríguez	Zapallito	Tacistro	Angelo	lechuga	surco
2010	Rodríguez	Zapallito	Ordoñez R.	Angelo	acelga	surco
2010	Rodríguez	Zapallito	Ramirez T.	Angelo	coliflor	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Uño 1	Angelo	acelga	surco
2010	Exaltación	Zapallito	Achura 1	Angelo	tomate	surco
2010	Exaltación	Zapallito	Mamani J.	Angelo	frutilla	goteo
2010	Exaltación	Zapallito	Jo	Angelo	pastura	surco
2010	Exaltación	Zapallito	Achura 2	Angelo	acelga	surco
2010	Exaltación	Zapallito	Guerrero A.	Angelo	repollo	surco
2010	Exaltación	Zapallito	Villafuerte D.	Angelo	verdeo	surco
2010	Luján	Berenjena	Choque 1	Media bocha	frutilla	goteo
2010	Luján	Berenjena	Choque 2	Media bocha	frutilla	goteo
2010	Luján	Berenjena	Callaguara	Media bocha	tomate	surco
2010	Rodríguez	Berenjena	Uño 1	Media bocha	verdeo	goteo
2010	Rodríguez	Berenjena	Anagua	Media bocha	frutilla	goteo
2010	Rodríguez	Berenjena	Velazquez E.	Media bocha	verdeo	surco
2010	Rodríguez	Berenjena	Uño 2	Noviello	brocoli	goteo
2010	Rodríguez	Berenjena	Velazquez F.	Media bocha	verdeo	surco
2010	Rodríguez	Berenjena	Aguilar H.	Media bocha	repollo	surco
2010	Rodríguez	Berenjena	Ramirez T.	Classic Bernal	frutilla	goteo
2010	Rodríguez	Berenjena	Velazquez O.	Media bocha	lechuga	surco
2010	Rodríguez	Berenjena	Tacistro	Media bocha	lechuga	surco
2010	Exaltación	Berenjena	Achura 1	Media bocha	verdeo	goteo
2010	Exaltación	Berenjena	Apasa 1	Media bocha	tomate	goteo
2010	Exaltación	Berenjena	Mamani M.	Media bocha	verdeo	surco
2010	Exaltación	Berenjena	Apasa 2	Media bocha	verdeo	goteo
2010	Exaltación	Berenjena	Guerrero A.	Media bocha	pastura	surco
2010	Exaltación	Berenjena	Mamani J.	Media bocha	verdeo	surco
2010	Exaltación	Berenjena	Villafuerte D.	Media bocha	verdeo	goteo

2010	Luján	Tomate	De Jesus	Sta. Paula	espinaca	goteo
2010	Rodríguez	Tomate	Uño 1	Zorsal	lechuga	goteo
2010	Rodríguez	Tomate	Uño 2	Sta. Paula	lechuga	goteo
2010	Rodríguez	Tomate	Velazquez F.	Maresma	maíz	surco
2010	Rodríguez	Tomate	Velazquez A.	Maresma	lechuga	goteo
2010	Rodríguez	Tomate	Velazquez A.	Elpida	lechuga	goteo
2010	Rodríguez	Tomate	Ordoñez R.	Maresma	chaucha	goteo
2010	Exaltación	Tomate	Jo 1	Maresma	pastura	surco
2010	Exaltación	Tomate	Villafuerte D.	Elpida	berenjena	surco
2010	Exaltación	Tomate	Villafuerte J.	Zorsal	verdeo	goteo
2010	Exaltación	Tomate	Achura 2	Sta. Paula	lechuga	goteo
2010	Exaltación	Tomate	Achura 2	Valorum	verdeo	goteo
2010	Exaltación	Tomate	Apasa 1	Maresma	chaucha	goteo
2010	Exaltación	Pimiento	Achura 2	Jazmín	frutilla	goteo
2010	Exaltación	Pimiento	Apasa 1	Jazmín	berenjena	goteo
2010	Exaltación	Pimiento	Villafuerte D.	Cacique	cherry	goteo
2010	Rodríguez	Pimiento	Ramirez T.	Platero	lechuga	goteo
2010	Rodríguez	Pimiento	Velazquez O.	Platero	lechuga	goteo
2010	Luján	Pimiento	Oliveira	Cacique	frutilla	goteo
2011	Luján	Zapallito	Oliveira	Angelo	remolacha	surco
2011	Luján	Zapallito	De Jesus	Angelo	repollo	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Velazquez A.	Angelo	lechuga	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Uño 1	Angelo	remolacha	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Anagua	Angelo	frutilla	goteo
2011	Rodríguez	Zapallito	Uño Zucch.	Angelo	lechuga	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Velazquez Ro.	Angelo	repollo	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Tacistro	Angelo	lechuga	surco
2011	Exaltación	Zapallito	Apasa 1	Angelo	frutilla	goteo
2011	Exaltación	Zapallito	Achura 1	Angelo	tomate	surco
2011	Rodríguez	Zapallito	Ordoñez R.	Angelo	acelga	surco
2011	Exaltación	Zapallito	Guerrero A.	Angelo	repollo	surco
2011	Luján	Berenjena	Tacistro	Media bocha	remolacha	surco
2011	Luján	Berenjena	De Jesus	Media bocha	acelga	surco
2011	Rodríguez	Berenjena	Aguilar	Media bocha	remolacha	goteo
2011	Rodríguez	Berenjena	Velazquez E.	Media bocha	acelga	goteo
2011	Rodríguez	Berenjena	Velazquez Ro.	Classic Bernal	zapallito	surco
2011	Rodríguez	Berenjena	Tacistro	Media bocha	zapallito	surco
2011	Rodríguez	Berenjena	Aguilar H.	Media bocha	remolacha	goteo
2011	Exaltación	Berenjena	Apasa 2	Media bocha	frutilla	goteo
2011	Exaltación	Berenjena	Apasa 2	Media bocha	berenjena	goteo
2011	Luján	Tomate	Jo 1	Maresma	pastura	surco
2011	Luján	Tomate	De Jesus	Maresma	rastrojo	surco
2011	Rodríguez	Tomate	Velazquez Ro.	Maresma	pimiento	goteo

2011	Rodríguez	Tomate	Anagua	Maresma	berenjena	goteo
2011	Rodríguez	Tomate	Villafuerte A.	Sta. Paula	lechuga	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Achura 2	Santa Paula	acelga	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Achura 2	Maresma	lechuga	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Villafuerte S.	Maresma	rastrojo	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Mamani M.	Sta. Paula	verdeo	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Villafuerte J.	Maresma	lechuga	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Porco	Maresma	verdeo	surco
2011	Exaltación	Tomate	Guerrero A.	Valorum	puerro	surco
2011	Exaltación	Tomate	Apasa 1	Maresma	tomate	goteo
2011	Exaltación	Tomate	Villafuerte A.	Maresma	rastrojo	goteo
2011	Rodríguez	Pimiento	Velazquez Ro.	Red Beauty	verdeo	goteo
2011	Rodríguez	Pimiento	Beatr Chile	Aconcagua	anco	goteo
2011	Exaltación	Pimiento	Apasa 1	Platero	lechuga	goteo

**Anexo 3.** Asociación entre las variables del muestreo y la presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. mediante tablas de contingencia.

## 1. Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por año

### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,654(b)	1	,419
Corrección por continuidad(a)	,380	1	,538
Razón de verosimilitudes	,655	1	,418
Estadístico exacto de Fisher			
Asociación lineal por lineal	,649	1	,421
N de casos válidos	112		

a Calculado sólo para una tabla de 2x2.

b 0 casillas (,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 22,10.

### Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	-,076	,419
	V de Cramer	,076	,419
	Coefficiente de contingencia	,076	,419
N de casos válidos		112	

a Asumiendo la hipótesis alternativa.

b Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

## 2. Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por localidad

### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,200(a)	2	,333
Razón de verosimilitudes	2,218	2	,330
Asociación lineal por lineal	2,033	1	,154
N de casos válidos	112		

a 0 casillas (,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 9,33.

### Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	,140	,333
	V de Cramer	,140	,333
	Coeficiente de contingencia	,139	,333
N de casos válidos		112	

a Asumiendo la hipótesis alternativa.

b Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

### 3. Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por productor

#### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	60,993(a)	36	,006
Razón de verosimilitudes	81,796	36	,000
Asociación lineal por lineal	3,409	1	,065
N de casos válidos	112		

a 74 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,49.

### Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	,738	,006
	V de Cramer	,738	,006
	Coeficiente de contingencia	,594	,006
N de casos válidos		112	

a Asumiendo la hipótesis alternativa.

b Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

#### 4. Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por hospedante

##### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	12,200 <sup>a</sup>	3	,007
Razón de verosimilitudes	12,670	3	,005
Asociación lineal por lineal	6,409	1	,011
N de casos válidos	112		

a. 2 casillas (25,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5.

La frecuencia mínima esperada es 4,42.

##### Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	,330	,007
	V de Cramer	,330	,007
	Coeficiente de contingencia	,313	,007
N de casos válidos		112	

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.

#### 5. Presencia / ausencia de *Phytophthora* spp. por órgano afectado

##### Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	65,213(a)	4	,000
Razón de verosimilitudes	83,249	4	,000
Asociación lineal por lineal	39,898	1	,000
N de casos válidos	112		

a. 4 casillas (40,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5.

La frecuencia mínima esperada es ,49.

##### Medidas simétricas

		Valor	Sig. aproximada
Nominal por nominal	Phi	,763	,000
	V de Cramer	,763	,000
	Coeficiente de contingencia	,607	,000
N de casos válidos		112	

a. Asumiendo la hipótesis alternativa.

b. Empleando el error típico asintótico basado en la hipótesis nula.



#### Anexo 4. Pruebas T – Diferencias de proporciones para cada hospedante

Prueba t - Diferencia de proporciones entre años para zapallito									
Presencia / Ausencia de P. capsici	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
								95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	Inferior	Superior
Varianzas iguales	0,731	0,398	0,450	37,000	0,656	0,071	0,157	-0,248	0,389
Varianzas desiguales			0,445	31,119	0,660	0,071	0,159	-0,253	0,395
Prueba t - Diferencia de proporciones entre años para berenjena									
Presencia / Ausencia de P. capsici	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
								95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	Inferior	Superior
Varianzas iguales	1,468	0,234	1,297	33,000	0,204	0,232	0,179	-0,132	0,596
Varianzas desiguales			1,309	23,010	0,203	0,232	0,177	-0,135	0,598
Prueba t - Diferencia de proporciones entre años para tomate									
Presencia / Ausencia de P. capsici	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
								95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	Inferior	Superior
Varianzas iguales	0,054	0,817	0,116	27,000	0,908	0,019	0,166	-0,320	0,359
Varianzas desiguales			0,116	25,998	0,908	0,019	0,165	-0,320	0,359
Prueba t - Diferencia de proporciones entre años para pimiento									
Presencia / Ausencia de P. capsici	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
								95% Intervalo de confianza para la diferencia	
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	Inferior	Superior
Varianzas iguales	0,728	0,422	-0,989	7,000	0,356	-0,350	0,354	-1,187	0,487
Varianzas desiguales			-1,000	6,815	0,351	-0,350	0,350	-1,182	0,482

**Anexo. 5.** Listas de productores.

Fuente: Programa de Cambio Rural – INTA y Dirección de Producción de la municipalidad de Gral. Rodríguez.

Nro.	Productor	Partido	Muestreo
1	AGUILAR CEFERINO	Exaltación de La Cruz	
2	APASA NICOLAS	Exaltación de La Cruz	
3	YANAJE FRANCISCO	Exaltación de La Cruz	
4	NINA GREGORIO	Exaltación de La Cruz	
5	CHAMBI GERMAN	Exaltación de La Cruz	
6	MIRANDA CELSO	Exaltación de La Cruz	
7	PORCO ELISEO	Exaltación de La Cruz	X
8	MAMANI FIDEL	Exaltación de La Cruz	X
9	ALVAREZ ETIENNE M.	Exaltación de La Cruz	
10	DELGADO FELIX	Exaltación de La Cruz	
11	GUERRERO AULIO	Exaltación de La Cruz	X
12	VILLAFUERTE RUBEN	Exaltación de La Cruz	X
13	VILLAFUERTE SAMUEL	Exaltación de La Cruz	X
14	SARDINAS MAXIMO	Exaltación de La Cruz	
15	APAZA ROXANA	Exaltación de La Cruz	
16	QUISPE ROBERTO	Exaltación de La Cruz	
17	DAVID NINA	Exaltación de La Cruz	
18	REARTE EDIL	Exaltación de La Cruz	
19	NINA JUAN CARLOS	Exaltación de La Cruz	
20	VEDIA LUCIANO	Exaltación de La Cruz	
21	MAMANI JANITO	Exaltación de La Cruz	
22	PORCO ABEL	Exaltación de La Cruz	
23	ACCHURA ROSALIA	Exaltación de La Cruz	
24	MAMANI MARIA ROSA	Exaltación de La Cruz	X
25	TINTAYA ANDRES	Exaltación de La Cruz	
26	RAMIREZ MILTON	Exaltación de La Cruz	
27	Villafuerte, Juan	Exaltación de La Cruz	X
28	Villafuerte, Luis	Exaltación de La Cruz	X
29	Porco, Benigno	Exaltación de La Cruz	X
30	Porco, Miguel Ángel	Exaltación de La Cruz	X
31	Yucra Acchura, Pedro	Exaltación de La Cruz	X
32	Yucra, Justino	Exaltación de La Cruz	X
33	Acchura, Javier	Exaltación de La Cruz	X
34	Acevedo, Agustín	Exaltación de La Cruz	X
35	Condorí, Ivan Bautista	Exaltación de La Cruz	X
36	Villalba Roxana	Exaltación de La Cruz	
37	Salvador Jaime	Exaltación de La Cruz	
38	Apaza Marcelino	Exaltación de La Cruz	X
39	Apaza Elías	Exaltación de La Cruz	X
40	Aguilar Jacinto	Exaltación de La Cruz	X
41	Apaza Carlos	Exaltación de La Cruz	X
42	Apaza María	Exaltación de La Cruz	X
43	Apaza Elizabeth	Exaltación de La Cruz	
44	Tamiatti Fernanda	Exaltación de La Cruz	
45	Yanaje Carlos	Exaltación de La Cruz	
46	Quicaño Soto, Rufino	Exaltación de La Cruz	

47	Orcko Escobar, Felix	Exaltación de La Cruz	
48	Ramírez, Policarpio	Exaltación de La Cruz	
49	Rearte, Edil	Exaltación de La Cruz	
50	Chambi, Germán	Exaltación de La Cruz	
51	Aytia, Samuel	Exaltación de La Cruz	
Total	51		20
% muestreo	100		39
Nro.	Productor	Partido	Muestreo
1	Cruz, Inocencio	Gral. Rodríguez	
2	Pereyra, Roberto	Gral. Rodríguez	
3	Mendoza, Bonifacio	Gral. Rodríguez	
4	Vargas, Adelario	Gral. Rodríguez	
5	Castro, Milder	Gral. Rodríguez	X
6	Anze Acarapi, Modesto	Gral. Rodríguez	
7	Tercero, Florencio	Gral. Rodríguez	
8	Flores, Ceferino	Gral. Rodríguez	X
9	Chavez, Ramón	Gral. Rodríguez	
10	Puque, Milton	Gral. Rodríguez	X
11	Fructuoso, Manuel	Gral. Rodríguez	
12	Bruza, Adrian Alejandro	Gral. Rodríguez	
13	Condorí, Demesio	Gral. Rodríguez	
14	Anze Acarapi, Felix	Gral. Rodríguez	
15	Martínez, Felix	Gral. Rodríguez	
16	Ramirez, Teófilo	Gral. Rodríguez	X
17	Mamani, Alfredo	Gral. Rodríguez	X
18	Zacarías, Flores	Gral. Rodríguez	
19	Caiguara, Agustín	Gral. Rodríguez	X
20	Choque, Cristian	Gral. Rodríguez	X
21	Anagua, Uño Reinaldo	Gral. Rodríguez	X
22	Condo, Clemente	Gral. Rodríguez	
23	Velazquez, Alberto	Gral. Rodríguez	X
24	Aguilar, Justino	Gral. Rodríguez	X
25	Anze, Mario	Gral. Rodríguez	
26	Velazquez, Domingo	Gral. Rodríguez	X
27	Brígida, Paco	Gral. Rodríguez	
28	Santos Soto Dionicio, J. y S.	Gral. Rodríguez	
29	Quispe, Brígida Gregorio	Gral. Rodríguez	
30	Aguilar, Ceferino	Gral. Rodríguez	X
31	Chacon, Plácido y Beltran, Luis	Gral. Rodríguez	
32	Ortega, Wilder	Gral. Rodríguez	
33	Yucra, Martín	Gral. Rodríguez	X
34	Collque, Elías	Gral. Rodríguez	
35	Hermógenes Montaña	Gral. Rodríguez	
36	Puma Colque, Cesar	Gral. Rodríguez	

37	Padilla, Fracisco	Gral. Rodríguez	
38	Padilla, Ceferino	Gral. Rodríguez	
39	Velazquez, Rogelio	Gral. Rodríguez	
40	Velazquez O. y E.	Gral. Rodríguez	X
41	Velazquez, Enrique	Gral. Rodríguez	X
42	Yucra, Juan	Gral. Rodríguez	X
43	Ibañez, Oropeza Willy	Gral. Rodríguez	X
44	Tapia, Eliberto	Gral. Rodríguez	
45	Porco Yucra, Isidro	Gral. Rodríguez	X
46	Yucra, Leoncio	Gral. Rodríguez	
47	Aguilar, Víctor	Gral. Rodríguez	X
48	López, Andres Rafael	Gral. Rodríguez	
49	Mallon, Pablo	Gral. Rodríguez	
50	Cahuana, Patricio	Gral. Rodríguez	
51	Ordoñez,Reinaldo	Gral. Rodríguez	
52	Tapia, Vicente Walter	Gral. Rodríguez	
53	Tapia, Roberto	Gral. Rodríguez	X
54	Tapia, Dilmar Eliber	Gral. Rodríguez	
55	Mendoza, Nicanor	Gral. Rodríguez	
56	Arias, Rolando	Gral. Rodríguez	
57	Arias, Jose Luis	Gral. Rodríguez	
58	Uño, J.	Gral. Rodríguez	X
59	Uño, R.	Gral. Rodríguez	X
Total	58		22
% muestreo	100		38
Nro.	Productor	Partido	Muestreo
1	Choque, 1	Luján	X
2	Choque, 2	Luján	X
3	Callaguara	Luján	X
4	Oliveira	Luján	X
5	De Jesús	Luján	X
6	Tacistro	Luján	X
7	Menacho	Luján	X
8	Opendoor 1	Luján	
9	Opendoor 2	Luján	
10	Opendoor 3	Luján	
11	Opendoor 4	Luján	
12	Opendoor 5	Luján	
13	Choque	Luján	
14	Yucra	Luján	
15	Mamani	Luján	
16	Parque Laza 1	Luján	
17	Parque Laza 2	Luján	
18	Parque Laza 3	Luján	
19	Parque Laza 4	Luján	
20	Parque Laza 5	Luján	
Total	20		7

% muestreo	100		35
------------	-----	--	----

## Anexo 6. Precipitaciones y Temperaturas

### Precipitación diaria de 2010

Estación Agrometeorológica - CIDEPA - UNLu. (34° 36' S y 59° 04' O, 28 msnm)												
Precipitaciones - Año 2010												
día	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1	-	-	-	-	-	-	-	-	7,0	-	-	5,0
2	1,5	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	-
3	-	9,0	13,5	-	-	-	-	-	45,0	-	-	-
4	44,5	51,5	-	-	-	0,8	-	-	2,0	-	2,5	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	3,0	60,0	-	-	3,5	-	-	-	-	-	-	-
7	-	3,0	-	-	-	-	15,5	-	-	7,5	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,0	-
10	-	-	12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	13,5	-	-	12,0
12	42,5	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	8,0
13	-	-	-	8,0	-	6,0	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	29,5	-	-	-	-	10,0	6,0	-	-
15	-	-	-	5,0	-	28,0	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	56,0	-	-	-	8,5	-	-	-	-	5,0
19	7,5	-	-	16,5	-	-	26,0	-	-	-	-	-
20	-	92,0	-	-	-	-	8,0	-	-	-	-	-
21	-	-	40,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	5,0	-	2,0	-	-	-	-	-	16,0	-
23	-	25,0	-	-	6,2	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	28,5	-	-	-	-	-	-	3,0
25	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	3,0	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	9,0	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	-	-	-
29	-	-	-	-	8,0	-	-	-	6,0	-	-	-
30	73,0	-	-	-	37,5	-	10,0	-	-	28,0	-	-
31	6,0	-	8,5	-	-	-	26,0	-	-	-	-	-
<b>Acumulada</b>	<b>178,0</b>	<b>246,5</b>	<b>135,5</b>	<b>59,0</b>	<b>88,2</b>	<b>43,8</b>	<b>98,0</b>	<b>0,0</b>	<b>93,5</b>	<b>41,5</b>	<b>29,5</b>	<b>33,0</b>
Nº días c/pp.	7	7	6	4	7	4	8	0	8	3	3	5
máximo en 24hs	73,0	92,0	56,0	29,5	37,5	28,0	26,0	0,0	45,0	28,0	16,0	12,0

## Precipitación diaria de 2011.

Estación Agrometeorológica - CIDEPA - UNLu. (34° 36' S y 59° 04' O, 28 msnm)												
Precipitaciones - Año 2011												
día	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
1	-	3,0	-	-	6,0	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	7,5	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	4,5	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-
5	15,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,5	-
6	-	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	32,0	-	-
8	14,0	22,0	-	24,0	-	-	-	-	-	11,0	-	-
9	8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	20,0	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	4,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	5,0	10,0	7,0	-	-	-	3,0	-	12,0	-	-
14	-	-	-	-	4,0	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	3,0	-	-	41,0	-	1,0	-	-	-	2,5
17	15,0	-	-	27,0	-	10,0	-	4,0	6,0	-	-	4,0
18	-	-	-	-	-	-	4,5	-	-	-	-	-
19	37,0	15,0	-	-	-	3,0	33,0	1,0	-	3,5	-	-
20	26,0	3,0	-	4,0	-	-	-	-	-	-	7,0	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-
22	-	-	-	-	4,0	1,5	-	-	-	-	-	28,0
23	-	-	17,0	14,0	5,0	21,0	-	-	-	-	-	-
24	-	78,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,0
25	-	2,0	-	-	26,0	-	-	-	-	-	-	-
26	6,0	-	-	-	-	-	25,0	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	18,0	6,0	-	-
30	-	-	-	68,0	-	-	-	-	-	-	16,0	-
31	50,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Acumulada</b>	<b>177,5</b>	<b>132,5</b>	<b>30,0</b>	<b>155,5</b>	<b>45,0</b>	<b>79,0</b>	<b>62,5</b>	<b>11,0</b>	<b>24,0</b>	<b>66,5</b>	<b>54,1</b>	<b>38,5</b>
Nº días c/pp.	10	8	3	8	5	6	3	5	2	6	5	4
máximo en 24hs	50,0	78,0	17,0	68,0	26,0	41,0	33,0	4,0	18,0	32,0	20,0	28,0

**Promedio histórico de precipitaciones acumuladas, de los últimos 28 años.**

<b>año</b>	<b>ENE</b>	<b>FEB</b>	<b>MAR</b>	<b>ABR</b>	<b>MAY</b>	<b>JUN</b>	<b>JUL</b>	<b>AGO</b>	<b>SEP</b>	<b>OCT</b>	<b>NOV</b>	<b>DIC</b>	<b>Anual</b>
<b>1988</b>	50,7	30,0	546,0	19,5	0,5	13,1	22,2	7,0	58,5	102,0	68,5	99,0	1017,0
<b>1989</b>	12,5	76,0	185,0	95,5	10,0	41,5	46,0	174,0	13,0	37,9	142,0	158,5	991,9
<b>1990</b>	177,0	210,5	160,5	85,4	36,5	1,0	21,5	30,5	42,3	124,5	178,5	74,0	1142,2
<b>1991</b>	141,6	54,0	60,0	45,9	114,8	92,2	51,0	35,0	98,7	131,5	86,8	127,5	1039,0
<b>1992</b>	99,5	52,5	77,2	120,0	213,9	155,6	36,6	59,5	31,1	114,0	74,1	94,0	1128,0
<b>1993</b>	96,0	102,0	162,5	210,0	148,7	120,0	23,0	35,5	41,8	187,0	258,5	137,5	1522,5
<b>1994</b>	82,5	42,5	104,5	143,0	89,3	50,9	4,0	20,0	36,5	135,5	26,6	155,0	890,3
<b>1995</b>	60,5	56,0	107,9	283,5	15,5	42,0	33,5	4,0	19,5	135,7	117,0	53,0	928,1
<b>1996</b>	47,8	157,1	30,0	122,0	27,0	4,0	28,5	67,0	96,0	96,8	97,9	79,0	853,1
<b>1997</b>	181,8	43,8	68,5	85,0	57,5	75,9	33,0	95,0	23,6	116,7	125,9	155,0	1061,7
<b>1998</b>	165,0	133,0	66,4	73,5	35,0	24,5	48,5	7,5	27,5	39,0	74,5	113,0	807,4
<b>1999</b>	127,0	256,5	173,5	38,0	36,4	10,0	104,5	61,5	68,5	31,5	45,0	46,5	998,9
<b>2000</b>	85,9	95,1	50,5	186,5	300,6	57,2	32,5	46,5	62,0	135,0	141,0	110,2	1303,0
<b>2001</b>	175,5	199,0	411,0	33,0	60,5	65,5	18,2	218,0	34,3	231,9	154,0	80,0	1680,9
<b>2002</b>	93,5	52,5	274,2	161,7	186	16,5	47,8	127	55,5	110	86,5	138,5	1349,7
<b>2003</b>	57,2	301,3	59,5	74,5	38,1	50	82,3	17	77,5	66,7	193,3	97,7	1115,1
<b>2004</b>	149,5	63,5	32,0	189,7	54,0	20,5	44,0	67,7	25,0	59,0	96,5	158,0	959,4
<b>2005</b>	120,0	82,9	114,5	83,5	16,8	45,0	75,0	81,0	44,5	29,0	92,5	26,0	810,7
<b>2006</b>	284,0	107,5	153,0	63,5	2,3	54,1	38,0	7,0	19,5	136,5	46,0	239,7	1151,1
<b>2007</b>	63,0	152,0	238,0	246,3	28,5	31,5	10,0	26,5	81,3	234,5	73,5	96,3	1281,4
<b>2008</b>	144,5	35,5	107,5	11,5	0,0	41,5	17,5	8,5	18,3	75,0	100,5	52,5	612,8
<b>2009</b>	21,5	138,0	74,0	56,5	37,0	16,5	105,0	26,0	112,5	123,0	208,5	163,0	1081,5
<b>2010</b>	178,0	246,5	135,5	59,0	88,2	43,8	98,0	0,0	93,5	41,5	29,5	33,0	1046,5
<b>2011</b>	177,5	132,5	30,0	155,5	45,0	79,0	62,5	11,0	24,0	66,5	54,1	38,5	876,1
<b>2012</b>	54,5	137,5	117,0	94,0	101,5	7,0	12,0	207,0	52,5	272,0	172,0	175,0	1402,0
<b>2013</b>	48,0	126,5	72,5	66,5	89,5	10,5	36,0	7,0	159,0	18,5	165,0	21,6	820,6
<b>2014</b>	217,5	350,5	88,5	136,5	133,0	23,5	102,5	8,0	138,3	206,5	273,5	116,0	1794,3
<b>P. H. P.*</b>	115,3	127,2	137,0	108,9	72,8	44,2	45,7	53,9	57,6	113,2	117,8	105,1	1099

\*Promedio histórico de precipitaciones acumuladas



## Temperaturas medias diarias del período enero – agosto de 2010 y 2011.

TEMPERATURA - LUJAN (34° 36' S y 59° 04' O, 28 msnm)																	
AÑO 2010																	
MES	ENERO		FEBRERO		MARZO		ABRIL		MAYO		JUNIO		JULIO		AGOSTO		MES
dia	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	dia
1	27,0	17,8	33,0	19,4	28,5	14,0	27,0	17,0	29,0	11,0	14,5	0,2	18,0	7,0	9,0	-3,0	1
2	31,5	14,6	30,5	23,4	31,0	18,0	19,5	11,4	29,0	13,5	18,0	5,0	21,5	10,0	10,0	-3,2	2
3	30,5	19,0	26,5	20,0	28,0	19,0	23,0	11,4	22,0	12,4	20,0	4,0	26,0	10,2	9,5	-5,0	3
4	30,5	17,2	28,0	19,4	31,0	19,0	18,0	6,8	19,0	10,0	16,0	10,0	27,0	18,0	10,0	-3,4	4
5	32,5	18,4	26,0	18,6	29,0	16,4	20,0	5,0	21,5	6,2	21,5	5,0	22,0	18,0	12,5	-3,2	5
6	25,5	17,2	28,0	21,6	29,0	14,8	23,0	5,6	18,0	14,8	22,0	8,0	15,0	11,0	15,5	2,4	6
7	25,5	14,0	28,5	20,2	29,5	14,5	23,0	9,0	17,0	0,0	18,0	4,0	13,5	9,0	16,0	-0,2	7
8	28,5	14,0	29,0	17,8	28,0	16,0	23,5	10,0	20,5	0,0	14,0	4,0	18,0	0,0	18,0	0,0	8
9	32,0	14,8	31,5	15,4	29,0	19,0	24,0	9,4	21,5	2,0	12,0	5,2	15,0	2,3	20,0	0,0	9
10	31,0	19,6	31,0	19,6	28,0	21,0	25,5	11,8	19,0	2,0	15,5	2,0	18,5	-0,2	20,0	0,2	10
11	31,5	18,5	33,0	19,8	26,0	14,6	27,0	13,6	20,0	2,5	17,5	4,4	15,0	11,0	16,5	3,8	11
12	24,5	16,0	33,0	19,6	25,0	12,0	27,5	16,0	21,5	6,0	12,5	10,0	7,0	1,6	12,5	9,6	12
13	28,0	10,4	30,5	22,2	28,5	14,4	17,0	16,2	22,0	7,4	17,5	10,6	10,0	0,0	10,5	2,0	13
14	31,0	12,2	27,5	15,0	25,0	14,8	14,0	12,0	23,0	11,0	15,0	14,2	10,0	0,0	11,0	0,2	14
15	32,0	17,2	27,0	15,6	23,0	6,0	19,5	10,0	15,5	10,0	17,5	5,0	8,0	-1,0	11,0	-1,0	15
16	27,0	20,8	21,0	16,0	23,5	9,0	23,0	5,0	13,5	2,2	17,0	5,6	8,0	-5,0	17,0	6,0	16
17	33,0	17,2	26,0	14,0	28,0	16,0	21,5	10,6	15,0	4,0	16,0	3,8	9,0	-6,0	22,0	2,0	17
18	27,5	18,4	28,0	19,0	27,0	17,0	30,0	13,4	20,0	4,2	13,0	7,0	10,0	0,6	21,5	10,0	18
19	28,0	18,4	32,0	20,0	29,0	20,0	26,0	13,4	23,0	7,2	13,5	8,0	9,0	7,2	20,0	4,0	19
20	30,5	13,6	29,0	21,6	26,0	17,0	23,5	10,0	18,0	9,0	16,0	3,2	14,5	3,0	21,0	0,0	20
21	33,5	19,0		19,8	18,0	16,4	23,0	8,2	20,5	15,0	11,0	0,2	14,5	0,0	24,5	9,0	21
22	34,0	20,0	23,0	21,0	26,0	14,4	20,0	7,5	20,5	17,2	17,0	3,2	11,0	0,2	23,0	10,0	22
23	33,5	18,4	24,5	17,0	29,0	9,0		1,0	17,5	12,2	20,5	7,5	13,0	-2,0	19,5	12,6	23
24	33,5	16,4	23,0	12,0	27,0	11,4	16,5	4,8	17,5	15,0	18,0	8,0	12,0	4,0	20,0	4,0	24
25	33,5	17,0	23,0	8,0	26,0	13,2	19,0	7,6	20,0	7,2	19,5	-1,0	11,5	6,0	21,0	0,4	25
26	33,5	19,2	25,5	9,2	26,0	11,0	20,5	7,0	20,0	5,6		6,0	17,0	2,0	20,5	1,0	26
27	33,5	18,0	27,5	13,4	28,0	15,0	22,5	5,2	17,0	10,0	13,0	9,0	19,0	2,0	22,0	6,0	27
28	33,5	21,4	27,0	12,0	29,0	16,8	23,5	5,0		14,4	17,0	0,0	13,0	5,8	23,0	9,0	28
29	34,0	20,6			28,5	14,0	23,0	4,0		14,2	16,5	4,0	19,5	0,8	15,0	11,0	29
30	28,5	18,4			30,0	15,6	26,0	4,8	14,0		17,5	3,2	13,0	9,0	15,0	1,0	30
31	25,5	19,0			31,0	19,0			12,0	0,0			12,5	3,0	14,0	12,4	31
PROM	30,5	17,3	27,9	17,5	27,4	15,1	22,4	9,1	19,6	8,2	16,4	5,3	14,5	4,1	16,8	3,1	PROM

TEMPERATURA - LUJAN (34° 36' S y 59° 04' O, 28 msnm)															
AÑO 2011															
ENERO		FEBRERO		MARZO		ABRIL		MAYO		JUNIO		JULIO		AGOSTO	
Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
30,5	17,8	26,5	12,0	28,0	16,6	31,5	11,2	15,0	10,2	18,0	2,0	10,5	-2,0	8,0	-3,0
33,8	20,4	31,0	13,8	28,0	17,0	28,5	14,5	15,5	2,0	17,5	4,0	11,0	-0,5	12,0	-1,6
32,0	21,5	35,0	18,0	29,5	18,0		15,0	17,5	0,0	13,0	4,0	9,5	-2,0	15,5	3,0
32,0	18,0	31,0	12,0	30,0	15,0	24,5	8,0	21,5	6,0	11,0	-0,6	13,5	-4,2	13,0	-1,0
31,5	20,0	33,5	13,4	29,5	14,4	27,0	5,2	22,5	11,6	13,0	1,0	12,5	-1,6	21,0	5,4
30,0	16,0	28,4	11,8			26,0	9,6	22,0	2,2	10,0	8,0	13,0	-4,4	23,0	1,0
35,0	16,2	22,0	18,0	27,5	17,8	26,5	13,0	23,5	6,0	11,0	2,0	17,0	1,4	19,0	6,6
33,0	19,0	26,5	17,0	33,0	17,4	22,5	10,0	16,5	11,0	13,5	6,0	19,5	1,0	16,0	10,0
30,0	18,4	27,5	15,5	33,5	19,6	23,5	6,0	17,5	0,0	17,0	7,0	20,5	6,0	17,0	12,8
30,5	16,2	28,7	15,0	32,0	20,0	25,0	11,2	25,0	7,0	18,5	6,4	21,0	6,5	19,0	14,6
31,0	20,0	28,5	13,8	32,5	17,0	28,5	12,0	26,5	11,0	20,5	10,8	22,0	7,0	26,0	11,6
32,0	18,0	30,0	15,4	26,0	21,4	29,5	14,4	23,0	7,0	20,5	6,0	22,0	8,0	20,0	14,0
34,0	15,6	32,3	17,8		9,0	30,0	14,0	19,0	9,0	12,5	4,4	20,5	1,6	18,0	7,2
34,0	19,4	32,3	12,0	23,0	4,2	22,0	13,0	20,0	13,6	15,0	1,8	16,0	4,0	17,0	1,8
34,0	16,4	30,0	16,0	24,0	9,0	20,0	10,0	17,5	6,0	15,5	11,0	22,0	13,0	14,0	10,0
33,5	23,0	30,5	17,0	28,0	14,0	21,0	6,4	18,0	7,2	20,0	14,0	17,0	7,0	15,0	12,0
31,0	12,0	34,0	18,0	28,5	15,4	20,0	14,6	20,0	7,8	14,0	9,0		-1,0	12,5	6,0
32,0	11,0	22,5	20,0	28,0	5,0	23,0	3,6	20,5	8,4	17,5	8,2	12,0	8,0	16,5	9,0
25,5	18,0	27,0	19,4	28,5	5,0	24,0	5,4	21,5	9,2	18,5	15,0	11,5	6,0	10,5	5,0
30,0	12,0	30,3	19,6	31,0	8,0	18,5	12,2	22,0	12,0	16,0	10,2	10,0	7,0	10,5	-0,8
30,0	14,0	29,0	19,0	32,5	9,0	17,0	12,2	24,0	14,0	14,5	6,8	14,0	1,8	9,5	-3,4
35,6	15,4	29,5	19,4	35,0	4,6	23,5	15,0	19,0	14,2	14,0	9,0	18,0	3,4		-3,2
35,3	18,0	25,0	20,2	21,0	14,0	20,0	6,4	15,5	0,0	12,5	10,0	18,0	3,8	14,0	-2,6
37,5	22,0	27,5	17,0	25,0	8,4	25,0	6,0	13,5	4,0	17,0	3,0	21,0	5,6	16,5	6,4
37,0	22,0	26,5	16,0	22,0	11,0	26,0	7,0	16,5	10,0	10,0	2,8	26,0	14,0	15,0	3,0
33,5	20,8	29,0	12,0	24,0	15,4	28,0	10,6	16,0	5,0	12,0	-1,2	17,0	7,0		1,0
31,5	22,0	33,0	15,2	22,0	6,0	28,0	12,4	16,5	4,2	17,0	-1,8	15,5	3,6	15,0	8,2
33,5	18,0	32,0	16,0	26,0	6,0	28,5	15,0	18,0	3,8	14,5	0,0	17,0	7,0	19,0	5,8
30,0	15,8			26,5	8,0	22,0	13,2	15,5	4,4	15,0	3,0	13,0	6,0	20,0	3,0
37,3	18,4			28,5	8,2	18,0	16,4	16,5	7,2	9,5	4,0		1,0	19,0	1,2
31,5	20,2			31,5	11,0			17,5	6,0				0,0	16,0	2,0
32,5	17,9	29,3	16,1	28,1	12,2	24,4	10,8	19,1	7,1	15,0	5,5	16,4	3,7	16,1	4,7

: Dato faltante

**Anexo 7.** Listado de aislamientos de *Phytophthora* identificados y determinación de la sensibilidad al metalaxil.

Nº	Aislamiento	Identificación morfológica	Identificación molecular	Sensibilidad al metalaxil
1	B AG Br2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
2	B AG Br4	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
3	B AG F1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
4	B AG F1.2		<i>P. capsici</i>	S
5	B AG F2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
6	B AG F 3		<i>P. capsici</i>	S
7	B AG F4	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
8	B AG F7	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
9	B AG F8	<i>P. drechsleri</i>	<i>P. drechsleri</i>	S
10	BAG F9		<i>P. capsici</i>	S
11	BAG F10		<i>P. cryptogea</i>	S
12	B AG F18		<i>P. capsici</i>	S
13	B AG T1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
14	B AG T 3		<i>P. capsici</i>	S
15	B AG T6	<i>P. drechsleri</i>	<i>P. drechsleri</i>	S
16	B AN T 1		<i>P. capsici</i>	S
17	BAG F1.22		<i>P. capsici</i>	S
18	B APA F1	<i>P. nicotianae</i>		
19	B APA F1.2		<i>P. nicotianae</i>	S
20	B CALL	<i>P. capsici</i>		
21	B CH	<i>P. nicotianae</i>		
22	B MAM M. F	<i>P. nicotianae</i>		
23	B UÑ 2 F	<i>P. capsici</i>		
24	B VELA F1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
25	B VELA F2		<i>P. capsici</i>	S
26	B VELA F3	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
27	B VELA F4		<i>P. capsici</i>	S
28	B VELA F5		<i>P. capsici</i>	S
29	B VILLD F1	<i>P. nicotianae</i>		
30	B VILL F1.1c		<i>P. nicotianae</i>	S
31	B VILL S F1.2a		<i>P. nicotianae</i>	S
32	B VILLD F3	<i>P. nicotianae</i>		S
33	P APA T1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
34	PAPA T3		<i>P. capsici</i>	S
35	P BEA Chile	<i>P. drechsleri</i>		S
36	P BEATChile F3.1		<i>P. cryptogea</i>	S
37	P VEL RO F2*		<i>P. capsici</i>	S
38	P VEL RO T*		<i>P. capsici</i>	S
39	P VEL RO T3	<i>P. capsici</i>		
40	P VILL D T 1	<i>P. capsici</i>		

41	T ACH F1	<i>P. nicotianae</i>	<i>P. nicotianae</i>	S
42	T ACH F2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
43	T ACH F3	<i>P. nicotianae</i>	<i>P. nicotianae</i>	S
44	T APA PI2	<i>P. nicotianae</i>	<i>P. nicotianae</i>	S
45	T APA T5.1		<i>P. capsici</i>	S
46	T JO 12	<i>P. nicotianae</i>		
47	T VEL RO F7	<i>P. capsici</i>		
48	T VELFlor T	<i>P. nicotianae</i>		
49	T VELRO F1*	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
50	T VELRO F2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
51	T VELRO F3	<i>P. capsici</i>		
52	T VELRO F5	<i>P. capsici</i>		
53	T VILLS F2	<i>P. nicotianae</i>		
54	T VILL S F22		<i>P. nicotianae</i>	S
55	TEVEL RO F4	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
56	Z ACH 1 F1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
57	Z ACH 1 F2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
58	Z ACH 1 F5*	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
59	ZACH F7		<i>P. capsici</i>	S
60	Z ACH 1 T3	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
61	ZACH 1 T 4		<i>P. capsici</i>	S
62	Z AN F1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
63	Z AN F2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
64	ZACH F4		<i>P. capsici</i>	S
65	ZAPA 1 T1		<i>P. capsici</i>	S
66	ZAPA T 6.1		<i>P. capsici</i>	S
67	ZAPA T6.2		<i>P. capsici</i>	S
68	Z APA 1 F5	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
69	Z APA 1 T4	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
70	Z APA 1 T5	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
71	Z MAM J. T3	<i>P. capsici</i>		
72	Z MEN T5	<i>P. capsici</i>		
73	Z OL F4	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
74	Z OL F5		<i>P. capsici</i>	S
75	Z OL F1*	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
76	ZOL T6		<i>P. capsici</i>	S
77	Z OL T7	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
78	ZOL FE		<i>P. capsici</i>	S
79	Z UÑ F3	<i>P. capsici</i>		
80	Z UÑ F612	<i>P. capsici</i>		
81	Z UÑ FE	<i>P. capsici</i>		
82	Z VELA F1	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
83	Z VELA F2	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
84	Z VELA F5.1		<i>P. capsici</i>	S
85	ZUCH UÑ F3	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S

<b>86</b>	ZUCH UÑ F6	<i>P. capsici</i>	<i>P. capsici</i>	S
<b>87</b>	ZUCH UÑ F6.12		<i>P. capsici</i>	S
<b>88</b>	ZUCH UÑO F		<i>P. capsici</i>	S

\*Aislamientos identificados en el Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP).